VOL. 113 OCTOMBRIE - DECEMBRIE 2009 ISSN: 0048-7848 Nr. 4

REVISTA MEDICO-CHIRURGICALĂ

A SOCIETĂȚII DE MEDICI ȘI NATURALIȘTI DIN IAȘI

SEMPER ALTIUS

Revista este inclusă în INDEX MEDICUS și în MEDLINE

Dorim să stabilim schimburi cu alte publicaţii.
On désire établir l'échange avec d'autres publications.
We wish to establish exchange with other publications.
Wir wünschen mit anderen Herausgaben den Austausch einzurichten.
Desideriamo stabilire scambio con alte publicazioni.
Déseamos establecer intercambio con otras publicaciones.

Revista Medico-Chirurgicală a fost fondată în anul 1887, primul număr apărând în luna ianuarie.
Revista Medico-Chirurgicală was establish in 1887, the first issue come out in January.

MUZEUL DE ISTORIE NATURALA
SOCIETATEA DE MEDICI SI NATURALISTI 1833

Sediul Societăţii de Medici şi Naturalişti Iaşi

COMITETUL
SOCIETĂŢII DE MEDICI ŞI NATURALIŞTI IAŞI

PREŞEDINTE
CAROL STANCIU

VICEPREŞEDINŢI
CORNELIU DIACONU, NORINA CONSUELA FORNA,
GEORGE IOAN PANDELE, VALERIU RUSU, MIRCEA ZAMFIR

SECRETAR
CONSTANTIN IORDACHE

TREZORIER
AUREL IVAN

CENZORI
ELENA BUTNARU, GHEORGHE COSTĂCHESCU, ŞTEFAN LĂCĂTUŞU

PREŞEDINŢI DE ONOARE
IOAN HAULICĂ, GHEORGHE SCRIPCARU, ALLA VÂŢĂ

PREŞEDINŢII SECŢIILOR ŞI CERCURILOR

Secţii
- Ovidiu Brumaru
- Elena Butnaru
- Gheorghe Costăchescu
- Norina Consuela Forna
- Anca Irina Galaction
- Viorica Gavăt
- Ioana Grigoraş
- Traian Mihăescu
- Maria Sultana Mihailovici
- Doina Mihalache
- Gheorghe Vasile Moscaliuc
- Mihai Nechifor
- George Ioan Pandele
- Dumitru Păduraru
- Liviu Pendefunda
- Gheorghe Petrescu
- Carol Stanciu
- Eugen Târcoveanu

Cercuri
- Vasile Astărăstoae
- Eduard Bild
- Rodica Marieta Chiriac
- Vasile Chiriţă
- Dorin Chiseliţă
- Vasile Costinescu
- Carmen Elena Cotrutz
- Eusebiu Vlad Gorduza
- Jan Hurjui
- Nicolae Ianovici
- Dan Mârţu
- Ostin Costel Mungiu
- Dragoş Negru
- Zenaida Petrescu
- Georgeta Siniţchi
- Felicia Ştefanache
- Eusebie Zbranca

REVISTA MEDICO-CHIRURGICALĂ
A SOCIETĂŢII DE MEDICI ŞI NATURALIŞTI DIN IAŞI

THE MEDICAL-SURGICAL JOURNAL
PHYSICIANS AND NATURALISTS SOCIETY, IAŞI, ROMANIA

EDITOR / PUBLISHER : Societatea de Medici şi Naturalişti din Iaşi

COLEGIUL EDITORIAL / ADVISORY BOARD

Monica Acalovschi – Cluj-Napoca
Cătălina Arsenescu-Georgescu – Iaşi
Dumitru Buiuc – Iaşi
Eugen Carasevici - Iaşi
Dorin Chiseliţă – Iaşi
Roxana Chiriţă - Iaşi
Constantin Ciufecu - Bucureşti
Tudorel Ciurea – Craiova
Vasile Costinescu - Iaşi
Maria Covic - Iaşi
Mihai Dan Datcu – Iaşi
Leon Dănăilă - Bucureşti
Vasile Dorneanu - Iaşi
Cristian Dragomir – Iaşi
Mircea Grigorescu – Cluj-Napoca
Ion Haulică - Iaşi
Jean Maublant – Clermont-Ferrand
Traian Mihăescu – Iaşi
Evelina Moraru - Iaşi
Dan Niculescu – Iaşi
Constantin Romanescu - Iaşi
Adrian Săftoiu - Craiova
Viorel Scripcariu - Iaşi
Ion Sporea - Timişoara
Carol Stanciu – Iaşi
Ursula Stănescu - Iaşi
Cristinel Ştefănescu - Iaşi
Eugen Târcoveanu – Iaşi
Anca Trifan - Iaşi
H. Van Damme - Liège

COLEGIUL DE REDACŢIE / EDITORIAL BOARD

Redactor şef
Valeriu Rusu
Redactori şefi adjuncţi
Doina Azoicăi, Adrian Covic, Norina Consuela Forna, Gabriel Ungureanu
Secretar de redacţie
Lucian Laurenţiu Indrei
Redactori
Mihaela Munteanu, Ioana Dana Alexa, Corina Dima-Cozma, Simona Manea, Camelia Cojocariu, Emil Anton, Răzvan Socolov, Radu Dănilă, Radu Moldovanu, Cipriana Ştefănescu, Carmen Lăcrămioara Zamfir, Eusebiu Vlad Gorduza, Teodora Alexa, Carmen Pânzaru, Florin Dumitru Petrariu, Irina-Draga Căruntu, Gianina Iovan, Irina Grădinaru, Anca Miron, Cristina Gabriela Tuchiluş, Alexandru Dan Ciochină, Gheorghe Iacob

E-mail
rev_med_chir@yahoo.com

Site
www.revmedchir.ro

Vol. 113/2009, Nr. 4

REVISTA MEDICO-CHIRURGICALĂ
A „SOCIETĂŢII DE MEDICI ŞI NATURALIŞTI" DIN IAŞI

REDACŢIA ŞI ADMINISTRAŢIA : IAŞI, BULEVARDUL INDEPENDENŢEI 16, 700098
Cont Banca Comercială Română filiala Iaşi RO72RNCB0175033604340001
Telefon 0232-216772 ; e-mail : rev_med_chir@yahoo.com

SUMAR

EDITORIAL

V. Rusu : 100 de ani de premii Nobel pentru Medicină 961

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE

ACTUALITĂŢI

Cătălina Maria Moldovanu, G.I. Pandele, V. Ambăruş, Simona Ionescu : Tratamentul cu statine şi inhibitori ai enzimei de conversie în stenoza aortică degenerativă - up to date 964
Florina-Mihaela Filip-Ciubotaru, Carmen Manciuc, Liliana Foia : Statinele şi disfuncţia endotelială 975
Mihaela Buşuioc, P. Gusbeth-Tatomir, A. Covic : Insuficienţa renală acută - prezent şi perspective 984
Cătălina Luca, Lucia Grigore, A. Vâţă, Carmen Dorobăţ : Consideraţii privind reacţiile adverse ale terapiei specifice în hepatita cronică cu virus C 991
Cătălina Poiană, Mădălina Muşat, Mara Carsote, Corina Chiriţă : Premenstrual Dysphoric Disorder : Neuroendocrine Interferences 996
F. Mitu, Mihaela Veronica Drăgan : Hiperuricemia şi sindromul metabolic 1001
Viviana Aursulesei, A. Cozma, M.D. Datcu : Paradoxul obezităţii - realitate sau ficţiune? .. 1006

ARTICOLE ORIGINALE

Mihaela Grecu, Cătălina Arsenescu Georgescu : Eficacitatea comparativă a cateterului de irigaţie externă versus cateter de 8 mm în ablaţia prin radiofrecvenţă a flutterului atrial istmic 1016
Cătălina Lionte, L. Şorodoc, O. Petriş, Victoriţa Şorodoc, Cristina Bologa, Gabriela Anton : Rabdomioliza non-traumatică în practica medicală 1025
C.C. Grigoraş, Adriana Grigoraş, Tr. Mihăescu, Liliana Vereş, E. Carasevici : Nivelul expresiei factorului de proliferare Ki67 în astmul bronşic 1034
C. Sfarti, Anca Trifan, C. Huţănaşu, Camelia Cojocariu, Ana-Maria Sîngeap, C. Stanciu : Evaluarea prevalenţei evacuării gastrice întârziate a solidelor la pacienţii cu dispepsie funcţională şi corelaţia sa cu simptomatologia 1040
Irina Ciortescu, C. Sfarti, Mărioara Stan, Mariana Graur, C. Stanciu : Prevalenţa infecţiei cu *Helicobacter pylori* la pacienţii cu diabet zaharat 1048
L. Săndulache, C. Stanciu : Prevalenţa infecţiei cu *Helicobacter pylori* în ciroza hepatică complicată cu encefalopatie 1056
C. Huţănaşu, C. Sfarti, Anca Trifan, Mihaela Huţănaşu, C. Stanciu : Contaminarea cu aflatoxine a alimentelor - factor suplimentar de risc pentru patologia hepatică cronică . 1061
S. Gherasim, Mihaela Dranga, Cătălina Mihai, Cristina Cijevschi Prelipcean : Cercetări pentru evidenţierea unor caracteristici ale manifestărilor clinice în gastritele (gastropatiile) produse de consumul în exces de alcool. Observaţii pe un lot de 117 pacienţi asistaţi în Spitalul Dorohoi 1066
V. Cepoi, A. Covic, Carmen Volovăţ : Evaluări clinico-epidemiologice asupra incidenţei unor boli cronice de rinichi, înregistrate în România şi judeţul Iaşi, în perioada 2004-2008 1070

Magdalena Vişănescu: Observaţii pe două gemene a influenţei radiaţiei cosmice ca factor de risc ... 1077

Laura Gheucă Solovăstru, D. Vâţă: Infecţiile fungice şi psoriazisul unghial ... 1083

Andrada Iova, P. Mihancea, Monica Sabău: General Aspects About the Morbidity in Alzheimer's Dementia During 2003-2005 at the Neurology and Psychiatry Clinical Hospital Oradea ... 1089

Silvia Ghimpu, Laura Bozomitu, E. Cârdei, Carmen Oltean, M. Burlacu, Dana Anton, Laura Trandafir, Doina Mihăilă, D. Moraru: Infecţia cu *Helicobacter pylori* la copiii cu boală celiacă ... 1093

Roxana-Gabriela Bahnea, Ingrid Cojocaru, Carmen Rîpă, Mihaela Cătălina Luca, A. Ivan, Mariana Luca: Manifestări respiratorii la copiii cu toxocaroză spitalizaţi în perioada 2005-2008 ... 1099

CAZURI CLINICE

Laura Stătescu, Delia Ciobanu, Georgiana Mihăilă, C. Stătescu, Laura Gheucă Solovăstru: Erupţie lichenoidă postmedicamentoasă ... 1102

Florentina Cucer, Cristina Rusu, R. Muller, Mihaela Munteanu, Doina Mihăilă, Ingrith Miron, O. Brumariu: Nephrotic Syndrome from the Genetic Point of View ... 1107

CHIRURGIE

ACTUALITĂŢI

Mihaela Grigore, Alina Mare: Applications of 3-D Ultrasound in Female Infertility ... 1113

Liliana Cerasela Tataru, Camelia Margareta Bogdănici: Glaucomul - boală neurodegenerativă ... 1120

Cătălina Pintilie, Gabriela Burlacu, V. Costinescu: Cuantificarea insuficienţei respiratorii acute de cauză laringo-traheală ... 1126

ARTICOLE ORIGINALE

C. Burcoveanu, S. Ştefan, Alina Ursache, Adriana Pricop: Cancerul hepatic primar şi secundar - posibilităţi de abord chirurgical în corelaţie cu stadiul evolutiv ... 1131

A.C. Ilie, C. Nica, I.A. Szucsik, A. Motoc, A. Sava, S. Grosu: Preoperative Ultrasonography As a Mean of Predicting the Conversion of Mini Cholecystectomy into Classic Cholecystectomy ... 1136

F. Onişor-Gligor, Al. Rotaru, M. Juncar, S. Bran: Studiu clinic privind integrarea grefelor sinusale şi a implanturilor în regiunea maxilară posterioară ... 1141

C. Oros, Maria Voroneanu: Managementul anxietăţii asociate terapiei în chirurgia dento-alveolară ... 1146

CAZURI CLINICE

V.D. Radu, B. Bercea: Ureterocel bilateral cu ureterohidronefroză gradul II şi litiază ureterală pelvină bilaterală secundară ... 1151

TEHNICI ŞI METODE

O. Alexa, I. Popia: Broşajul Py-Desmanet în fracturile radiusului distal ... 1155

ŞTIINŢE FUNDAMENTALE

ACTUALITĂŢI

Anca Jătariu, Cătălina Peptu, M. Popa, Anca Indrei: Micro- and Nanoparticles - Medical Applications ... 1160

ARTICOLE ORIGINALE

Germaine Săvoiu, Simona Drăgan, Carmen Cristescu, Corina Şerban, Lavinia Noveanu, Daniela Ionescu, T. Nicola, Oana Duicu, Andreea Răducan, Mirela Voicu: The Protective Effect of Superoxide Dismutase on Isolated Human Mammary Arteries Preincubated with Triglyceride-rich Remnant Lipoproteins ... 1170

Angela Dăscălescu, Mihaela Zlei, Georgiana Grigore, C. Dănăilă, Daniela Jitaru, E. Carasevici: Identificarea semnificaţiei prognostice a fenotipului asociat leucemiei în corelaţie cu alţi markeri biologici la pacienţii cu leucemie acută mieloblastică ... 1176

L. Negură, E. Carasevici, V. Artenie, Anca Negură: Using MPLA for Large Genomic Rearrangements Detection in Breast Cancer Predisposition Genes ... 1182

Ramona Mircea, Doina Lucia Frîncu, F. Dumitrache: Expresia CA-125 în unele tumori ovariene ... 1191

Nina Zamosteanu, Cristiana Filip, Luminiţa Jerca, Irina Albuţ, Rodica Cuciureanu: Biogenic Amines Determination in Some Romanian Meat Products ... 1195

Raluca Haliga, Veronica Mocanu, Ioana Păduraru, B. Stoica, T. Oboroceanu, Veronica Luca: Effects of Dietary Flaxseed Supplementation on Renal Oxidative Stress in Experimental Diabetes ... 1200

TEHNICI ŞI METODE

Ramona Gabriela Ursu, M. Onofriescu, D. Nemescu, Luminiţa Smaranda Iancu: Optimizarea unor tehnici de biologie moleculară pentru diagnosticul infecţiilor cu virusuri Papilloma umane ... 1205

MEDICINĂ PREVENTIVĂ - LABORATOR

ARTICOLE ORIGINALE

Laura Florescu, Mioara Matei, Genoveva Bălănică, Doina Azoicăi: Studiu transversal de evaluare a evoluţiei şi a unor factori de risc la copilul născut prematur ... 1211

Mioara Matei, L. Negură, E. Carasevici, Doina Azoicăi: Particularităţi privind riscurile individuale la un lot de femei cu neoplazii genitale ... 1216

Antoaneta-Maria Ilie, Alina Manole, Corina Stănescu, Liliana Cojocaru, A. Lăzăreanu, Cătălina Pascal: Cercetări clinico-epidemiologice retroprospective pe un lot de 277 bolnavi cu hepatită virală A, în vârstă de 20-70 ani, din judeţul Suceava, în perioada 2001-2008 ... 1222

L.L. Indrei, Adriana Albu: Aportul mediu de legume la un lot de elevi din oraşul Iaşi ... 1227

Monica Tarcea, Corina Zugravu, J. Szavuj, Hajnal Finta, F. Patraulea, F. Szasz: Date de management spitalicesc privind cazurile de urgenţă din România în 2007 ... 1231

Silvia Filipiuc, Odette Nicolae, Cătălina Luncă, Luminiţa Smaranda Iancu: Monitorizarea incidenţei infecţiei cu *Neisseria gonorrhoeae* şi a rezistenţei acesteia în judeţul Suceava 1238

Gabriela Băncescu, A. Băncescu, Amalia-Sofia Neagu, Manuela Radu-Popescu, Ştefania-Felicia Bărbuceanu: Contribution towards Developing a New Semi-selective Medium for *Streptococcus anginosus* Group ... 1243

MEDICINĂ DENTARĂ

ACTUALITĂŢI

C. Babiceanu, Maria Voroneanu: Actualităţi privind implicarea microbiană în abcesele periorale ... 1249

ARTICOLE ORIGINALE

Ana Petcu, A. Maxim, Danisia Haba: Relaţia dintre axul molarului prim permanent mandibular şi pierderea prematură a molarilor temporari ... 1253

R.M. Vataman, C. Cotuţiu, Şt. Lăcătuşu: Modificări structurale osoase în pungile parodontale ... 1259

Anca Musteaţă, Magda Ecaterina Antohe, Norina Consuela Forna: Aspecte clinice ale terapiei edentaţiei parţial întinse la cazurile sociale ... 1263

R. Stamate, Magda Ecaterina Antohe, Norina Consuela Forna: Studiu privind metodele de evaluare paraclinică non-invazivă în acord cu particularitatea cazului clinic diagnosticat cu edentaţie parţial întinsă ... 1268

FARMACIE

ARTICOLE ORIGINALE

Oana Cioancă, Anca Miron, Ana Clara Aprotosoaie, Monica Hăncianu, Adriana Trifan, Ursula Stănescu: Contribuţii la studiul comparativ al acţiunii antioxidante a unor extracte preparate din flori de muşeţel 1274

Anca Hemcinschi, Elvira Gille, Adriana Trifan, R. Necula, Ursula Stănescu: Contribuţii la studiul variabilităţii chimice a unor populaţii de *Galium album* Mill. recoltate din flora spontană din nordul Moldovei 1280

Daniela Gărbuleţ, A.F. Şpac, V. Dorneanu: Date comparative privind două metode de determinare prin HPLC a isoniazidei 1285

BIONGINERIE MEDICALĂ

ARTICOLE ORIGINALE

E. Bautu, A. Bautu, R. Ciorap, V.M. Pomazan, L.C. Petcu: Metode de management al datelor clinice într-un sistem integrat de monitorizare la distanţă 1289

Alina Zahariuc, Fl. Munteanu, V. Merticaru: Evaluarea forţei de încărcare pe articulaţia şoldului la pacienţii cu artroplastie totală de şold 1293

Daniela Matei, Al.D. Ciochină, C. Corciovă, Ana Stratone: Modificările parametrilor spirografici în diabetul zaharat tip 2 1298

INDEX

Index autori 1303

Index cuvinte cheie 1307

CONTENTS

EDITORIAL

V. Rusu: 100 Years of Nobel Prizes for Medicine 961

INTERNAL MEDICINE - PEDIATRICS

UPDATES

Cătălina Maria Moldovanu, G.I. Pandele, V. Ambăruş, Simona Ionescu: The Treatment with Statins and Angiotensin-converting Enzyme Inhibitors in Degenerative Aortic Stenosis - Up to Date 964

Florina-Mihaela Filip-Ciubotaru, Carmen Manciuc, Liliana Foia: Statins and Endothelial Dysfunction 975

Mihaela Busuioc, P. Gusbeth-Tatomir, A. Covic: Acute Renal Failure - Present and Perspective 984

Cătălina Luca, Lucia Grigore, A. Vâţă, Carmen Dorobăţ: Considerations on Adverse Reaction of Specific Therapy of Chronic Hepatitis C 991

Cătălina Poiană, Mădălina Muşat, Mara Carsote, Corina Chiriţă: Premenstrual Dysphoric Disorder: Neuroendocrine Interferences 996

F. Mitu, Mihaela Veronica Drăgan: Hyperuricemia and the Metabolic Syndrome 1001

Viviana Aursulesei, A. Cozma, M.D. Datcu: Obesity Paradox 1006

ORIGINAL PAPERS

Mihaela Grecu, Cătălina Arsenescu Georgescu: Comparative Efficiency of Externally-irrigated Cooled-tip Catheter vs. 8 mm Tip Catheter in Radiofrequency Ablation of Common Atrial Flutter 1016

Cătălina Lionte, L. Şorodoc, O. Petriş, Victoriţa Şorodoc, Cristina Bologa, Gabriela Anton: Non-traumatic Rhabdomyolysis in Medical Practice 1025

C.C. Grigoraş, Adriana Grigoraş, Tr. Mihăescu, Liliana Vereş, E. Carasevici: The Expression Level of Ki67 Proliferation in Bronchial Asthma 1034

C. Sfarti, Anca Trifan, C. Huţănaşu, Camelia Cojocariu, Ana-Maria Sîngeap, C. Stanciu: Prevalence of Delayed Gastric Emptying of Solids in Functional Dyspepsia and Its Relationship to Symptoms 1040

Irina Ciortescu, C. Sfarti, Mărioara Stan, Mariana Graur, C. Stanciu: Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection in Patients with Diabetes Mellitus 1048

L. Săndulache, C. Stanciu: Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection in Liver Cirrhosis Complicated with Hepatic Encephalopathy 1056

C. Huţănaşu, C. Sfarti, Anca Trifan, Mihaela Huţănaşu, C. Stanciu: Aflatoxin Contamination of Food: Additional Risk Factor for Chronic Liver Diseases 1061

S. Gherasim, Mihaela Dranga, Cătălina Mihai, Cristina Cijevschi Prelipcean: Study on Post-alcohol Consumption Gastritis Clinical Characteristics. Assessment on a Group of 117 Patients from Dorohoi Hospital 1066

V. Cepoi, A. Covic, Carmen Volovăţ: Clinical Epidemiological Assessments Regarding the Incidence of Some Kidney Diseases Registered in Romania and Iaşi County Between 2004-2008 1070

Magdalena Vişănescu: Observation on Twins of Cosmic Radiation Influence as a Risk Factor 1077

Laura Gheucă Solovăstru, D. Vâţă: Fungal Infections and Nail Psoriasis 1083

Andrada Iova, P. Mihancea, Monica Sabău: General Aspects About the Morbidity in Alzheimer's Dementia During 2003-2005 at the Neurology and Psychiatry Clinical Hospital Oradea 1089
Silvia Ghimpu, Laura Bozomitu, E. Cârdei, Carmen Oltean, M. Burlacu, Dana Anton, Laura Trandafir, Doina Mihăilă, D. Moraru: *Helicobacter pylori* Infection in Children with Celiac Disease 1093
Roxana-Gabriela Bahnea, Ingrid Cojocaru, Carmen Rîpă, Mihaela Cătălina Luca, A. Ivan, Mariana Luca: Toxocariasis Respiratory Manifestations in Cases Hospitalized in the Paediatric Diseases Clinic of Iaşi, Between 2005-2008 1099

CASE REPORTS

Laura Stătescu, Delia Ciobanu, Georgiana Mihăilă, C. Stătescu, Laura Gheucă Solovăstru: Lichen Planus-like Eruption. Case Report 1102
Florentina Cucer, Cristina Rusu, R. Muller, Mihaela Munteanu, Doina Mihăilă, Ingrith Miron, O. Brumariu: Nephrotic Syndrome from the Genetic Point of View 1107

SURGERY

UPDATES

Mihaela Grigore, Alina Mare: Applications of 3-D Ultrasound in Female Infertility 1113
Liliana Cerasela Tataru, Camelia Margareta Bogdănici: Glaucoma - Neurodegenerative Disease 1120
Cătălina Pintilie, Gabriela Burlacu, V. Costinescu: Quantification of the Acute Respiratory Insufficiency of Laryngotracheal Origin 1126

ORIGINAL PAPERS

C. Burcoveanu, S. Ştefan, Alina Ursache, Adriana Pricop: Primary and Secundary Hepatic Cancer - Surgical Treatment Particularities in Correlation with the Evolutive Stahe 1131
A.C. Ilie, C. Nica, I.A. Szucsik, A. Motoc, A. Sava, S. Grosu: Preoperative Ultrasonography As a Mean of Predicting the Conversion of Mini Cholecystectomy into Classic Cholecystectomy 1136
F. Onişor-Gligor, Al. Rotaru, M. Juncar, S. Bran: Clinical Study of Sinus Grafts and Implants Integration in the Posterior Maxilla 1141
C. Oros, Maria Voroneanu: Management of the Anxiety Associated with Oral Surgery . 1146

CASE REPORTS

V.D. Radu, B. Bercea: Bilateral Ureteroceles with Bilateral Secondary Hydronephrosis and Pelvic Ureteral Calculi. Case Report 1151

TECHIQUES AND METHODS

O. Alexa, I. Popia: Py-Desmanet Pinning in Distal Radius Fractures 1155

BASIC SCIENCES

UPDATES

Anca Jătariu, Cătălina Peptu, M. Popa, Anca Indrei: Micro- and Nanoparticles - Medical Applications 1160

ORIGINAL PAPERS

Germaine Săvoiu, Simona Drăgan, Carmen Cristescu, Corina Şerban, Lavinia Noveanu, Daniela Ionescu, T. Nicola, Oana Duicu, Andreea Răducan, Mirela Voicu: The Protective Effect of Superoxide Dismutase on Isolated Human Mammary Arteries Preincubated with Triglyceride-rich Remnant Lipoproteins 1170
Angela Dăscălescu, Mihaela Zlei, Georgiana Grigore, C. Dănăilă, Daniela Jitaru, E. Carasevici: Prognostic Significance of Leukemia-associated Phenotype in Correlation with Other Biologic Markers in Acute Myeloid Leukemia Patients 1176

L. Negură, E. Carasevici, V. Artenie, Anca Negură: Using MPLA for Large Genomic Rearrangements Detection in Breast Cancer Predisposition Genes 1182
Ramona Mircea, Doina Lucia Frîncu, F. Dumitrache: Tumoral Markers în Ovarian Carcinoma 1191
Nina Zamosteanu, Cristiana Filip, Luminiţa Jerca, Irina Albuţ, Rodica Cuciureanu: Biogenic Amines Determination in Some Romanian Meat Products 1195
Raluca Haliga, Veronica Mocanu, Ioana Păduraru, B. Stoica, T. Oboroceanu, Veronica Luca: Effects of Dietary Flaxseed Supplementation on Renal Oxidative Stress in Experimental Diabetes 1200

TECHIQUES AND METHODS

Ramona Gabriela Ursu, M. Onofriescu, D. Nemescu, Luminiţa Smaranda Iancu: Optimisation of Some Molecular Techniques for Diagnosis of Human Papillomavirus Infection 1205

PREVENTIVE MEDICINE - LABORATORY

ORIGINAL PAPERS

Laura Florescu, Mioara Matei, Genoveva Bălănică, Doina Azoicăi: Cross-sectional Study to Evaluate Evolution and Risk Factors in Premature Children 1211
Mioara Matei, L. Negură, E. Carasevici, Doina Azoicăi: Particularities of the Individual Risks in a Group of Women with Genital Cancers 1216
Antoaneta-Maria Ilie, Alina Manole, Corina Stănescu, Liliana Cojocaru, A. Lăzăreanu, Cătălina Pascal: Clinical Epidemiological Retroprospective Research on a Sample of 227 Patients with Viral Hepatitis A, 20-70 Aged, from the Suceava County, Between 2001-2008 1222
L.L. Indrei, Adriana Albu: Average Vegetable Intake in a Group of Schoolchildren from Iaşi 1227
Monica Tarcea, Corina Zugravu, J. Szavuj, Hajnal Finta, F. Patraulea, F. Szasz: Management Data Regarding Emergency Cases Hospitalized in Romania in 2007 ... 1231
Silvia Filipiuc, Odette Nicolae, Cătălina Luncă, Luminiţa Smaranda Iancu: The Monitoring of *Neisseria gonorrhoeae* Infection Incidence and Iţ Resistance in Suceava County 1238
Gabriela Băncescu, A. Băncescu, Amalia-Sofia Neagu, Manuela Radu-Popescu, Ştefania-Felicia Bărbuceanu: Contribution Towards Developing a New Semi-selective Medium for *Streptococcus anginosus* Group 1243

DENTAL MEDICINE

UPDATES

C. Babiceanu, Maria Voroneanu: Microbial Involvment in Perioral Abscesses Update ... 1249

ORIGINAL PAPERS

Ana Petcu, A. Maxim, Danisia Haba: The Relation Between the Lower First Permanent Molar Axis and Premature Loss of Temporary Molars 1253
R.M. Vataman, C. Cotuţiu, Şt. Lăcătuşu: The Bone Modifications in the Periodontal Pockets 1259
Anca Musteaţă, Magda Ecaterina Antohe, Norina Consuela Forna: Clinical Aspects of Therapeutical Solutions Involved in Oral Rehabilitation of Partially Edentulous Patients 1263
R. Stamate, Magda Ecaterina Antohe, Norina Consuela Forna: Study on Noninvasive Paraclinic Evaluation Methods According to Case Particular Aspects in Patients Diagnosed with Partial Edentation 1268

PHARMACY

ORIGINAL PAPERS

Oana Cioancă, Anca Miron, Ana Clara Aprotosoaie, Monica Hăncianu, Adriana Trifan, Ursula Stănescu : Contribution to the Comparative Study of the Antioxidant Potential of Some Extracts Obtained from *Chamomillae* Flowers 1274
Anca Hemcinschi, Elvira Gille, Adriana Trifan, R. Necula, Ursula Stănescu : Contributions to the Study the Chemical Variability of Some *Galium album* Mill. Populations Harvested from Wild Florafrom the Northern Moldavia 1280
Daniela Gărbuleţ, A.F. Şpac, V. Dorneanu : Comparative Data Regarding Two HPLC Methods for Determination of Isoniaside 1285

MEDICAL BIOENGINEERING

ORIGINAL PAPERS

E. Bautu, A. Bautu, R. Ciorap, V.M. Pomazan, L.C. Petcu : Design Considerations for Clinical Data Management in an Integrated Remote Medical System 1289
Alina Zahariuc, Fl. Munteanu, V. Merticaru : Hip joint Force Evaluation to Patients with Hip Prosthesis 1293
Daniela Matei, Al.D. Ciochină, C. Corciovă, Ana Stratone : Changes of Spirographic Parameters in Type 2 Diabetes Mellitus 1298

INDEX

Author Index 1303
Key Words Index 1307

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

EDITORIAL

O SUTĂ DE ANI DE PREMII NOBEL PENTRU MEDICINĂ

Deşi primele premii *Nobel* au fost decernate începând cu anul 1901, în 2009 s-a acordat abia premiul pentru *Medicină* cu numărul 100. Un decalaj de 9 ani, din cauza celor două războaie mondiale nu s-au atribuit 7 premii (1915-1918, 1940-1942), dar în alţi 2 ani (1921 şi 1925) laureaţii au lipsit pentru că la *Stockholm* s-a considerat că nu au existat candidaţi demni de suprema consacrare ştiinţifică. În celelalte două domenii ştiinţifice, *Fizică* şi *Chimie*, întreruperile au fost mai puţine, astfel încât s-a ajuns mai demult la premiile cu numărul 100. Este chiar curios faptul că, de exemplu, în cazul *Fizicii*, în perioada primului război mondial, premiul a fost suprimat doar o singură dată, în anul 1917, pe când în *Medicină* 4 ani la rând.

Dar sincopele în acordarea premiilor *Nobel* sunt mai puţin relevante. Dimpotrivă, *o sută de ani de premii Nobel pentru Medicină* putea fi un eveniment potrivit pentru o retrospectivă, care să depăşească informaţiile limitate de pe *Internet*, prin analize şi comentarii interesante. Dar, cum se spune uneori, n-a fost să fie. Pentru că mass-media autohtonă, aproape în întregul său e supusă unor comandamente care îi asigură supravieţuirea, şi dacă vine vorba despre medicină au mare căutare aberaţiile pseudo-ştiinţifice, în ultima vreme îndeosebi trăznăile denumite medicină cuantică sau, dacă ne luăm dupa titlul unei cărţi, *Medicul cuantic*, una din sursele şarlatanismului medical actual. Mai trist este că uneori premiile *Nobel* pentru *Medicină* sunt total ignorate inclusiv de tinerii care, după o sintagmă la modă, luptă din greu pentru dobândirea unor competenţe în cercetarea ştiinţifică biomedicală. Că să nu fiu bănuit de conservatorism, citez pe încă tânărul *Dan Ungureanu* (a studiat în *România* şi *Franţa*, predă de un deceniu în *Franţa, România* şi *Canada*, atât în învăţământul universitar cât şi în cel preuniversitar) care a publicat recent în "*Dilema Veche*" (nr. 308, 2010, p. 14) articolul "*Educaţia axată pe competenţe*" (cu subtitlul - *dacă n-a mers "la ei", va merge "la noi"* ?). Iată citatul : "*Şcoala trebuie să creeze competenţe, nu să umple mintea cu cunoştinţe*"(auzim mai în fiecare zi acest îndemn suprem şi imperativ, cum l-a auzit şi autorul articolului). Dar iată ce scrie în continuare *Dan Ungureanu*: "*Am predat în sistemul bazat pe competenţe. A fost introdus în Canada, în provincia Québec, acum zece ani, şi e o catastrofă, care a redus nivelul învăţământului canadian francofon la standarde de lumea a treia. Îi invit pe toţi cei care vorbesc fransé sa-şi arunce o privire pe forumurile de discuţii ale profesorilor din Québec. Am fost în viitorul de aur pe care ni-l promite Ministerul Educaţiei, şi aduce cu epoca de piatră*". Cam tot aşa a "reuşit" campania competenţelor în *Elveţia*, în *Statele Unite* şi în *Belgia francofonă*. Oare ce or fi facând studenţii americani în bibliotecile din campusuri, deschise adesea până la două noaptea? Până să ajungă la competenţe, învaţă şi nu dau semne că îi domină iluzia că datorită proximităţii şi accesibilităţii informaţiei de pe *Internet* nu trebuie să ştie, fiindcă pot găsi cu *Google*. Pentru tinerii aspiranţi la competenţe în cercetarea biomedicală, studiul aprofundat al premiilor *Nobel*, în mod particular al celor în relaţie cu tema tezei de doctorat, este necesar şi, cu certitudine, profitabil.

Dar să ne întoarcem la premiul *Nobel pentru Medicină din 2009*, unul dintre cele mai interesante din întreaga istorie de 100 de ani. Dacă în 2008 toţi cei trei laureaţi erau europeni, în anul 2009 totul s-a întâmplat conform tendinţei dominante din ultimele decenii, atât în ceea ce priveşte naţionalitatea laureaţilor, domeniul de cercetare şi chiar laboratoarele din care aceştia provin. Astfel au fost distinşi cu premiul *Nobel*: *Elizabeth H. Blackburn* (61 ani, cu naţionalitate dublă, australiană-americană), de la *Universitatea California - San Francisco*, *Carol W. Greider* (48 ani), de la *Universitatea John Hopkins-Baltimore* şi *Jack W. Szostak* (57 ani) de la Institutul *Medical Howard Hughes-Harvard, Boston*. Premiul a fost acordat, conform formulării oficiale de la *Stockholm*, *„pentru descoperirea modului în care cromozomii sunt protejaţi de telomeri şi de enzima telomerază"*. Domeniile majore de aplicaţii în medicină ale descoperirii s-au conturat de mai bine de un deceniu: procesele de îmbătrânire (ipoteza telomerică a senescenţei datează încă din 1991) şi în oncologie (telomeraza ca marker de diagnostic precoce şi de prognostic în cancer, iar inhibitorii telomerazei ca agenţi terapeutici). Să observăm că primele două cercetătoare sunt femei, astfel încât numărul laureatelor pentru medicină a crescut la 10, din totalul de 195 de premiaţi, din 1901 şi până în prezent. Ceea ce este foarte puţin în raport cu prezenţa feminină în laboratoarele de cercetări biomedicale.

Fundaţia Nobel a comunicat recent că numărul mic de laureate ar fi consecinţa prezenţei reduse a cercetătoarelor în marile laboratoare, în urmă cu două decenii. Ori premiul *Nobel* se acorda la circa 15-20 de ani de la atestarea descoperirilor. În plus, a dat speranţa asupra creşterii numărului de premiante în viitor. O prognoză este dificilă, cert este doar că în 2009, alături de cele două laureate pentru *Medicină*, s-a mai adugat trei: pentru *Chimie*, *Literatură* şi *Economie*. un adevărat record.

Premiul *Nobel pentru Medicină - 2009* are câteva caracteristici care conturează o cale sigură către consacrarea supremă în cercetarea ştiinţifică:

- cei trei cercetători provin din cele mai productive universităţi în materie de laureaţi *Nobel*;
- în perioada post-doctorală, decisivă, ei au efectuat stagii în laboratoare de prim rang, inclusiv în *Europa*;
- au colaborat extrem de armonios, deşi în cea mai mare parte a timpului au lucrat în laboratoare diferite;
- ei sunt autorii a două descoperiri distincte: telomerii protejează cromozomii de distrucţie (*E.H. Blackburn* şi *J.W. Szostak în 1980*); descoperirea telomerazei (*C.W. Greider* şi *E.H. Blackburn în 1984*);
- în scurt timp, ei au demonstrat universalitatea în lumea vie a sistemelor moleculare pe care le-au descoperit;
- au comunicat şi au publicat sistematic rezultatele la reuniuni ştiinţifice şi în reviste de mare impact, întotdeauna cu probe de mare acurateţe şi claritate, fiind prea puţin interesaţi de un număr cât mai impresionant de articole;
- în paralel, ei nu au ezitat să prezinte rezultatele obţinute în reviste de popularizare (dar nu de vulgarizare), ca în cazul articolului apărut în *"Scientific American"* în numărul din luna aprilie 1996; această revistă fiind denumită şi *"jurnalul viitorilor laureaţi Nobel"*, deoarece publică (graţie intuiţiei profesionale a redactorilor) articole ale majorităţii cercetătorilor care peste ani - uneori chiar decenii - vor fi încununaţi la *Stockholm*;
- dar cea mai mare surpriză, în strădania celor trei recent laureaţi de a fi cunoscuţi şi dincolo de cercul totuşi limitat al specialiştilor, constă în publicarea în revista *Nature Medicine*, vol.12, nr.10, oct. 2006, pp.VII-X, la rubrica *Commentary* a articolului *"Telomeres and telomerase: the puth from maize, Tetrahymena and yeast to human cancer and aging"*; din titlu este descoperirilor lor la nivelul cât mai multor persoane care ar putea fi consultate de *Comitetul Nobel*;
- în anul 2006 cei trei viitori laureaţi au fost distinşi cu *premiul Albert Lasker*, denumit şi *Nobelul American*, deoarece o mare parte dintre premianţi devin *laureaţi Nobel*, nu pentru ca *Institutul Karolinska* îi favorizează ci datorită criteriilor de selecţie riguroase.

Să încheiem cu o noutate în materie de predicţie a premiilor Nobel: din anul 2002 a început să se impună în anticiparea numelor laureaţilor *Nobel* compania *Thomson Reuters*. Utilizând datele provenind de la *ISI Web of Knowledge*, compania compilează lista cuprinzând *Citation Laureats*, adică un clasament al cercetătorilor care au acumulat cel mai mare număr de citări (*stratospheric citation total*, cum era menţionat recent în revista *"The Scientist"*) dar au scris în decursul carierei şi câteva lucrări cu mare impact în comunitatea ştiinţifică. Procedeu inspirat, pentru că la 25 septembrie 2009, deci cu 10 zile înainte de comunicatul oficial de la *Stockholm*, compania a publicat pe site-ul revistei *"The Scientist"* un clasament predictiv, în care pe primul loc se află cei trei laureaţi *Nobel* 2009! Şi motivul acestei aprecieri este formulat perfect: *"pentru rolul lor în descoperire şi pentru cercetări de pionierat asupra telomerilor şi telomerazelor"*. Este bine sa precizăm ca şansele pentru *Nobel* încep de la peste 5000 de citări.

Ce am mai putea adăuga la sfârşitul acestui editorial? Pentru reflecţie, cuvintele lui *George Emil Palade* rostite în 1999, cu ocazia vizitei sale în ţara natală: *"Ştiinţa în România are de ales între două variante: să fie românească sau să fie cu adevărat ştiinţă"*.

Prof. Dr. Valeriu Rusu

Redactor şef

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

TRATAMENTUL CU STATINE ŞI INHIBITORI AI ENZIMEI DE CONVERSIE ÎN STENOZA AORTICĂ DEGENERATIVĂ - UP TO DATE

Cătălina Maria Moldovanu[1], G.I. Pandele[2], V. Ambăruş[1], Simona Ionescu[1]
Universitatea de Medicină şi Framcie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1 Clinica a III^{-a} Medicală
Spitalul Clinic de Recuperare Iaşi
2 Clinica a VI^{-a} Medicală

THE TREATMENT WITH STATINS AND ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME INHIBITORS IN DEGENERATIVE AORTIC STENOSIS - UP TO DATE (Abstract): Degenerative aortic stenosis (AoS) is the most common valvular disease in adults; that's why, the aortic valve replacement is one of the most frequent cardiac surgical procedures. The etiology of degenerative AoS is actually well known, the primary lesion being aortic sclerosis. Aortic sclerosis shares many pathological features and risk factors with atherosclerosis and, because atherosclerosis may be prevented and/or reversed by cholesterol lowering, there has been postulated that cholesterol lowering therapy using statin drugs could modify the course of aortic sclerosis/stenosis. Some studies also demonstrated the implication of renin-angiotensin-aldosterone system in the degenerative aortic disease, and the use of angiotensin-converting enzyme inhibitors could also be used to delayed or even reverse the evolution of Ao sclerosis / stenosis. The paper reviews the latest literature date about the definition and prevalence of aortic sclerosis and stenosis as well as medical treatment of degenerative AoS. Conclusions: Treatment with statins has not proved effective in preventing the progression of lesions valves but have an important role in patients with associated coronary artery disease. Angiotensin converting enzyme inhibitors does not influence the progression of lesions valves, but may play a role in cardiac remodeling. **Key words**: DEGENERATIVE AORTIC STENOSIS, CALCIFIC AORTIC STENOSIS, AORTIC SCLEROSIS, STATINS, CHOLESTEROL LOWERING THERAPY, ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME INHIBITORS

Stenoza aortică (SAo) este definită ca prezenţa unui obstacol în ejecţia sângelui din ventriculul stâng (1,2,3). Se consideră că orice reducere a suprafeţei orificiului aortic (2,5-3 cm^2 în mod normal sau 1,5 cm^2/m^2 suprafaţă corporală (3)), poate fi considerată SAo, deşi suprafaţa orificiului aortic poate scădea cu până la 50% din aria normală, fără a apare gradiente transvalvulare foarte mari şi simptome (3). SAo lezională poate fi localizată la nivel supravalvular, valvular sau subvalvular (1,2,3); din punct de vedere etiologic, SAo valvulară se clasifică în congenitală şi dobândită (reumatismală sau degenerativă).

Actualmente societăţile de cardiologie iau în considerare următorii parametri, măsuraţi uzual ecocardiografic, pentru a defini SAo: aria orificiului aortic (sub 1,5 cm^2), gradient de presiune trans-aortic (> 25 mmHg) şi viteza fluxului transvalvular (velocitate) (> 3 m/s) (6). Aceşti parametri permit o apreciere cantitativă a gravităţii SAo (tab. I) cu implicaţii asupra deciziei terapeutice şi prognosticului. Nu există o corelaţie directă între prezenţa şi gravitatea simptomelor şi parametrii ecocardiografici prezentaţi.

TABELUL I

Clasificarea ecocardiografică a severităţii SAo

	SAo uşoară	**SAo moderată**	**SAo severă**
AVA (cm^2)	> 1,5	1,5 – 1	< 1
AVA index (cm^2/m^2)			< 0,6
Gradient transvalvular mediu (mmHg)	< 25	25 - 40	> 40
Velocitatea maximă (m/sec)	< 3	3 – 4	> 4
Gradient transvalvular maxim (mmHg)	< 50	50 - 80	> 80

SAo valvulară degenerativă este cea mai frecventă afecţiune valvulară la adult (30-40% din afecţiunile valvulare) şi reprezintă indicaţia cea mai frecventă pentru intervenţiile de protezare valvulară (4). Este mai frecventă la bărbaţi decât la femei, raportul bărbaţi / femei fiind 1,7/1-4,3/1 (1).

Diferite studii arată prevalenţe îngrijorătoare ale sclerozei valvelor aortice şi respectiv, ale SAo; astfel, Stewart BF et al. (5) pe un studiu ce a cuprins 5201 pacienţi de peste 65 ani, raportează o prevalenţă a sclerozei aortice de 26% (diagnosticată ecografic) şi a SAo, de 2%, la populaţia de peste 75 ani valorile fiind de 37% şi respectiv 2,6%. Novaro GM şi Mills RM (6) indică valori asemănătoare, dar raportează şi o frecvenţă a bicuspidiei aortice de 1-2%. De asemenea, Mihaljevic T et al. (7) citează valori asemănătoare şi menţionează că prevalenţa SAo creşte cu vârsta ajungând la 4% la persoanele de peste 84 ani. Creşterea incidenţei afecţiunii cu vârsta este citată încă din anii 80'-90'; astfel, unii autori consideră că boala este de 5 ori mai frecventă între 60-80 ani decât la pacienţii sub 30 ani (1). Leziunile necropsice raportate în literatură arată o frecvenţă de 4,4% la populaţia de peste 65 ani şi respectiv, 5,5% la cei de peste 75 ani (1). Balentine J et al. (8) notează în plus că 3% din pacienţii peste 75 ani au SAo severă. Prendergast B (9) citând studii ecocardiografice efectuate în populaţia generală, arată că 5% din persoanele peste 75 ani au SAo moderată, 3% SAo severă, iar jumătate dintre pacienţi sunt asimptomatici.

În S.U.A., 2,5% dintre pacienţii peste 65 ani au scleroză aortică (10) şi cca 4% din populaţia peste 75 ani au SAo (11). Se consideră că 1 din 6 pacienţi cu scleroză aortică evoluează spre SAo (12) şi o jumătate din pacienţii cu stenoză aortică uşoară şi moderată evoluează spre stenoză aortică severă (13). Raportarea AHA din 2006 (14) consideră că afecţiunile valvulare sunt răspunzătoare de 19.989 decese, majoritatea (12.471 - 62,4%) datorându-se patologiei aortice; aceeaşi sursă menţionează că în 2003, în S.U.A., au fost implantate 95.000 de proteze valvulare.

Supravieţuirea pacienţilor cu stenoză aortică simptomatică este redusă (15,16,17, 18), iar tratamentul de elecţie este înlocuirea (protezarea) valvulară (19). Indicaţia de protezare şi momentul intervenţiei se bazează pe simptomatologie (angină, dispnee sau sincopă) (20). În aceste situaţii protezarea valvulară are o rată înaltă de succes şi un prognostic bun pe termen lung (21,22). Managementul formelor asimptomatice reprezintă o provocare, întrucât absenţa simptomelor se asociază cu un risc crescut de deces (moarte subită); pe de altă parte protezarea valvulară neselectată şi prematură conduce la o rată înaltă a morbidităţii şi mortalităţii perioperatorii. Cel puţin 30% dintre pacienţii cu SAo sunt asimptomatici (24,25).

ISTORIA NATURALĂ

Clasic (1,2,3,4) se considera că modificările degenerative ale valvelor aortice apar ca urmare a stresului mecanic. Actualmente conceptul de degenerare al ţesutului valvular aortic a evoluat (7,10): se consideră că prima etapă a proceselor degenerative care vor conduce la calcificarea valvelor, sunt modificările inflamatorii. Implicarea inflamaţiei în etiopatogenia SAo degenerative a fost demonstrată, de creşterea nivelului plasmatic al proteinei C reactive (CRP), de prezenţa infiltratului inflamator format din macrofage şi limfocite T (demonstrat imunohistochimic), de prezenţa depozitelor lipidice, preponderent subendoteliale (lipoproteine) (26,27,28,29). Procesul de calcificare apare mai târziu prin mecanisme incomplet cunoscute (implicarea macrofagelor cu activitate osteoblast-like secretante de osteopontina) (29,30). Sunt de asemenea, implicate şi alte mecanisme: remodelarea matricei extracelulare (alterarea sintezei de colagen şi a degradării elastinei sub acţiunea metaloproteinazelor şi catepsinei care contribuie la creşterea rigidităţii valvelor) şi implicarea angiotensinei II ca factor ce favorizează progresia fibrozei (31).

De asemenea, factorii de risc ai aterogenezei sunt comuni cu ai degenerării valvulare aortice: HTA, fumat, niveluri crescute de LDL-colesterol şi lipoproteine (5).

Ca urmare a acestor date, actualmente este folosit în literatură termenul de boală aortică aterosclerotică valvulară, care poate fi non-obstructivă (scleroza aortică) şi obstructivă (stenoza aortică valvulară degenerativă cu diferite grade de severitate) (10).

Durata medie de progresie de la scleroză la stenoza aortică moderată şi severă este de 6-8 ani (12). În acest interval ventriculului stâng suferă o remodelare pentru a creşte contractibilitatea (32,33). Reducerea scurtării fibrelor longitudinale datorată disfuncţiei subendocardice (34) este însoţită de hipertrofie ventriculară concentrică adaptativă (35) şi de exagerarea torsiunii ventriculului stâng (36) pentru a păstra fracţia de ejecţie, care iniţial este normală. Odată stenoza aortică moderată prezentă, rata medie a progresiei velocităţii jetului sanguin este de 0,3 m/sec/an, cu o creştere concomitentă a gradientului mediu transvalvular de 7 mm Hg/an şi o reducere a ariei orificiului aortic (AVA) cu 0,1 cm^2/an (21,37,38,39). Progresia calcificărilor şi a modificărilor hemodinamice este accelerată la pacienţii la care procesul de degenerare survine pe valve bicuspide (40); aceştia necesită protezare valvulară mai repede (40-50 ani) faţă de bolnavii cu SAo dezvoltată pe valve tricuspide (60-70 ani) (41).

Ross şi Braunwald (42) au publicat un studiu detaliat asupra evoluţiei naturale a stenozei aortice, rezumând prospectiv şi retrospectiv (postmortem) experienţa lor. Astfel, după o perioadă de latenţă (asimptomatică) variabilă, pacienţii devin simptomatici; apariţia simptomatologiei determină o scădere brutală a supravieţuirii: pacienţii cu SAo care, dezvoltă angină şi sincopă supravieţuiesc 3 ani, cei cu dispnee 2 ani, iar cei cu insuficienţă cardiacă congestivă 1,5-2 ani. Acest rezultat provine dintr-un studiu din 1968 care a inclus pacienţi simptomatici cu stenoză aortică etiologic heterogenă (ex. bicuspidie, stenoză aortică reumatismală) ceea ce limitează aplicabilitatea în stenoza aortică aterosclerotică.

Studii retrospective (24,43) şi studii prospective (21,44) au evaluat prognosticul şi managementul pacienţilor cu SAo asimptomatică. Trebuie menţionat că aceste studii diferă ca design (ex. vârstă, criterii de includere şi excludere, criterii de definiţie). De exemplu, Otto CM et al. (44) au inclus pacienţi cu stenoză aortică medie şi cu bicuspidie aortică (28% din pacienţii înrolaţi). Pelillikka PA et al. (24) au introdus şi pacienţii cu grade variate de dispnee, considerând simptomul nespecific. Pe de altă parte, end-point-ul primar a fost considerat protezarea valvulară, ceea ce duce la o interpretare secundară a duratei de supravieţuire. De asemenea, boala ischemică coronară nu a fost un criteriu de excludere şi

este o cauză de moarte. În ciuda acestor limitări, s-a dovedit că aproximativ 30% din pacienţii asimptomatici devin simptomatici în 2 ani (43), iar în 4,5 ani, 2/3 dintre pacienţi ajung fie la protezare valvulară, fie la deces (21,24,44). Supravieţuirea la pacienţii asimptomatici neoperaţi este de 99%, 98% şi 93% la 1 an, 2 şi respectiv, 5 ani, similară cu cea din populaţia sănătoasă de aceeaşi vârstă şi sex. În schimb, supravieţuirea globală a pacienţilor cu stenoză aortică severă asimptomatică, atât cei operaţi (protezare valvulară) cât şi cei neoperaţi, este aproximativ similară: 93±2%, 91±3% şi 87±3% la 1, 2 şi respectiv 5 ani (21).

Prognosticul devine sumbru odată cu apariţia simptomelor, supravieţuirea scăzând dramatic (24); estimarea morţii subite (fără simptome premonitorii) este de 3-5% / an (42). Recent, dovezile susţin conceptul că, moartea subită în stenoza aortică real asimptomatică este mai mică de 1% / an (15,17,21,43,44).

PROFILAXIA SAo ŞI A PROGRESIEI SA0

În prezent, nu se poate face o profilaxie reală a SAo; totuşi, profilaxia SAo degenerative şi a progresiei leziunilor valvulare se suprapune peste *prevenţia factorilor de risc aterogeni*.

Factorii de risc endogeni (vârstă, sex, predispoziţia pentru dezvoltarea diabetului zaharat, dislipidemii familiale) nu sunt modificabili; în schimb, schimbarea stilului de viaţă şi anumite clase de medicamente pot influenţa factorii exogeni şi pot modula factorii endogeni (dislipidemii, inflamaţie), modificând evoluţia unor afecţiuni cu predispoziţie genetică (diabetul zaharat). Astfel, renunţarea la fumat, o alimentaţie sănătoasă cu evitarea alimentelor bogate în lipide, activitatea fizică, se constitue în măsuri obligatorii pentru prevenţia aterogenezei şi degenerării valvulare.

STATINELE ŞI SAo

Pornind de la premisa că procesul de generare şi progresie a leziunilor valvulare aortice, cunoaşte verigi patogenice comune cu procesul de aterogeneză, s-au efectuat numeroase studii asupra efectelor inhibitorilor HMG-coenzimaA-reductaza, pe leziunile aortice, precum şi despre inhibitorii sistemului renină-angiotensină-aldosteron (25).

Statinele acţionează prin efectul lor pleiotropic şi antiinflamator reducând disfuncţia endotelială, mai mult decât prin scăderea colesterolului. Au fost efectuate mai multe studii clinice pentru evaluarea eficienţei terapiei cu statine în încetinirea progresiei SAo.

În 2002, Shavelle DM et al. (96) a raportat o reducere a progresiei calcificărilor valvulare aortice (determinate prin computer tomografie) la pacienţii trataţi cu statine.

Doi ani mai târziu Rosenhek R et al. (97) au publicat un studiu efectuat pe 211 pacienţi (vârstă medie de 70±10 ani) cu SAo (velocitatea maximă peste 2,5 m/sec; AVA = 0,84±0,23 cm^2; gradient mediu = 42±19 mmHg) cu funcţie sistolică normală, monovalvulari, care au primit timp de 2 ani IECA (102 pacienţi), statine (50 pacienţi) şi ambele medicamente (32 pacienţi). Progresia velocităţii aortice anuală pentru întregul lot, a fost de 0,32±0,44 m/sec/an şi a fost semnificativ mai scăzută la pacienţii trataţi cu statine (0,10±0,41 m/sec/an versus 0,39±0,42 m/sec/an; $p < 0,0001$). Efectul a fost observat atât în SAo uşoare şi moderate, cât şi în cele severe. De asemenea, s-a constatat că nivelul colesterolului nu s-a corelat cu progresia hemodinamică a SAo, indiferent de terapia primită.

Studiul SALTIRE (*Schottish Aortic Stenosis and Lipid Lowering Trials*) (98) a inclus 77 pacienţi cu SAo degenerativă, calcificată la care s-a administrat 80 mg atorvastatin şi 78 pacienţi la care s-a administrat placebo, demonstrând însă, *că statinele nu reuşesc să încetinească sau să inducă* *regresia procesului de degenerare valvulară.* Criteriile de includere au fost: pacienţi peste 18 ani cu SAo, cu o velocitate a jetului aortic de cel puţin 2,5 m/s şi prezenţa de calcificări ale valvelor aortice evidenţiate la ecocardiografie, iar durata de dispensarizare de 25 luni. Se remarcă deci, că au fost incluşi pacienţi cu SAo constituită cu niveluri plasmatice diferite ale colesterolului!

Studiul RAAVE (*Rosuvastatine Affecting Aortic Valve Endothelium*) (99) a inclus 121 pacienţi cu SAo asimptomatică moderată şi severă din care 61 cu LDL colesterol > 130 mg%, ce au primit Rosuvastatine şi au fost urmăriţi 18 luni. După peste 70 de săptămâni, pacienţii care au primit rosuvastatine aveau o progresie semnificativ mai redusă a leziunilor evaluată prin mai multe criterii ecocardiografice: creşterea velocităţii aortice anuale - 0,04 versus 0,24 (p=0,007); scăderea anuală a AVA - 0,05 versus 0,10 (p=0,041); creşterea gradientului maxim = 2,13 versus 7,57 (p=0,010).

Studiul SEAS (*The simvastatin and ezetimibe in aortic stenosis study*) include peste 1800 pacienţi distribuiţi în două loturi: simvastatin + ezetimib versus placebo (100). Rezultatele acestuia, publicate în septembrie 2008 în *New England Journal of Medicine,* au demonstrat că terapia combinată cu simvastatin şi ezetimibe reduce doar incidenţa evenimentelor ischemice cardio-vasculare, dar nu şi pe cele legate de evoluţia SAo (101); astfel, velocitatea maximă la sfârşitul studiului a fost în grupul placebo de 3,71±0,76 m/s cu o creştere medie de 0,62±0,61 m/sec, faţă de 3,69±0,78 m/s cu o creştere de 0,61±0,59 m/s în grupul care a primit statine (p=0,83). Valori similare au fost obţinute şi pentru ceilalţi parametri ecografici (gradient de presiune, AVA); reducerea anuală a AVA a fost de asemenea, similară în cele două loturi - 0,03±0,01 m/s.

Toate aceste rezultate, sugerează că eficienţa terapiei cu statine este maximă la pacienţii cu SAo şi comorbidităţi (dislipidemie, boală coronariană, sau diabet) care "oricum vor primi statine", îmbunătăţind evoluţia prin scăderea ratei evenimentelor coronariene (102). Eficienţa redusă a statinelor în SAo şi în special în formele ce prezintă calcificări importante se datorează probabil activării, prin intermediul proteinelor GPCR (*G protein-coupled receptors*) a unor kinaze care reglează matricea extracelulară - *extracellular-regulated kinases* (ERK) (103). De asemenea, s-a constatat că în valvele calcificate, există supraexpresia genelor - *transforming growth factor (TGF)-beta, Eotaxin3, vascular adhesion protein-1* (VAP-1) – care au fost doar parţial inhibate de terapia cu statine (104). În plus, genele care controlează formarea ţesutului osos de la nivelul valvelor aortice calcificate (*tenascin C, bone sialoprotein, Cbfa1, Osteocalcin, Beta-catenin, Sox* şi *Cycli*) nu au fost influenţate de terapia cu statine (105).

SISTEMUL RENINĂ ANGIOTENSINĂ ALDOSTERON (RAA) ŞI SAo

A fost demonstrată prezenţa enzimei de conversie a angiotensinei şi a angiotensinei II în valvele aortice cu scleroză, ceea ce nu s-a evidenţiat în ţesutul valvular normal (97,103). Aceasta sugerează un potenţial rol al sistemului RAA în etiopatogenia leziunilor valvulare aortice. Enzima de conversie a angiotensinei a fost de asemenea identificată în leziunile aterosclerotice, iar angiotensina II, prin efectele sale proinflamatorii contribuie la procesul de ateroscleroză.

Inhibitorii enzimei de conversie a angiotensinei (IECA) ar acţiona asupra următoarelor verigi patogenice din SAo (104):

- încetinirea progresiei leziunilor valvulare aortice prin scăderea inflamaţiei şi a calcificărilor;
- diminuarea hipertrofiei ventriculare stângi, apoptozei şi fibrozei ce apar în evoluţia SAo;
- scăderea HTA prin vasodilataţia periferică produsă de IECA ar putea reduce stressul hemodinamic şi strain-ul la nivelul valvelor aortice.

În 2004, Rosenhek R et al. (97) pe un studiu retrospectiv efectuat pe 21 pacienţi au găsit că IECA nu încetinesc progresia leziunilor de ateroscleroză: velocitatea maximă a crescut cu 0,29±0,44 m/sec/an în lotul tratat cu IECA versus 0,35±0,4 m/sec/an la pacienţii fără IECA (p=0,29). De asemenea, nu au fost găsite diferenţe între tipurile şi dozele de IECA folosite.

Un an mai târziu, O'Brien KD et al. (105) analizând evoluţia calcificărilor valvelor aortice prin computer tomografie la două loturi de pacienţi (trataţi cu IECA şi lot martor, fără tratament cu IECA) au constatat că 75% dintre pacienţii netrataţi au prezentat progresia calcificărilor, faţă de 42% în lotul cu IECA (p<0,001). Concluzia studiului a fost că tratamentul cu IECA poate preveni progresia calcificărilor.

Jiménez-Candil J et al. (106) au evaluat efectele IECA la pacienţii hipertensivi cu SAo asimptomatică. Studiul a cuprins 20 pacienţi, de peste 70 ani, cu fracţie de ejecţie de peste 45% şi AVA mediu de 0,7 cm^2. Rezultatele obţinute au arătat că scăderea postsarcinii datorată IECA este limitată de o creştere paralelă a gradientului transvalvular aortic; cu toate acestea IECA influenţează favorabil stressul hemodinamic la această categorie de pacienţi. Chambers J (107) a studiat efectele IECA asupra hipertrofiei ventriculare stângi maladaptative din SAo. A constatat că independent de severitatea SAo, structura şi funcţia VS influenţează apariţia simptomelor şi „evenimentelor" la pacienţii cu SAo. HVS se dezvoltă precoce în evoluţia naturală a SAo şi este posibil, dar, nedemonstrat, că IECA să prezerve pentru mai mult timp funcţia VS şi să amelioreze supravieţuirea *„event-free"*, dacă tratamentul este instituit precoce, odată cu diagnosticarea SAo. De menţionat că, în trecut, IECA erau contraindicaţi la pacienţii cu SAo severă, dar, în mod similar beta blocantelor în insuficienţa cardiacă, indicaţiile terapeutice s-au schimbat, prejudecăţile fiind depăşite. Totuşi sunt necesare precauţii la pacienţii cu valori tensionale reduse, cu SAo severă, dat fiind riscul de degradare hemodinamică şi colaps.

CONCLUZII

Singurul tratament logic al SAo este protezarea valvulară. Dacă pentru SAo simptomatică indicaţia tratamentului chirurgical este bine precizată, managementul formelor asimptomatice este dificil şi discutabil.

Tratamentul cu statine nu şi-a dovedit eficienţa în prevenirea progresiei leziunilor valvulare, dar are un rol important la pacienţii cu boală coronariană asociată sau alte comorbidităţi.

Inhibitorii enzimei de conversie a angiotensinei nu influenţează progresia leziunilor valvulare, dar pot avea un rol în remodelarea cardiacă.

BIBLIOGRAFIE

1. Nicolaescu V, Câmpeanu Al. Stenoza aortică. In: Păun R editor. *Tratat de medicină internă – Bolile cardiovasculare.* partea a II-a. Bucureşti: Ed. Medicală. 1989. 396-416.
2. Apetrei A. Valvulopatiile. In: Gherasim L editor. *Medicină internă – bolile cardiovasculare şi metabolice.* vol. 2. Bucureşti: Ed. Medicală, 1996. 321-336.
3. Vlaicu R, Zdrenghea D. Cardiopatii valvulare. In: Negoiţă CI editor. *Clinică medicală.* vol. 1. ediţia a II-a. Bucureşti: Ed. Didactică şi Pedagogică, 1995, 152-156.
4. Iung B, Baron G, Butchart EG et al. A prospective survey of patients with valvular heart disease in Europe: the Euro Heart Survey on Valvular Heart Disease *Eur Heart J* 2003; 24: 1231-1243.

5. Stewart BF, Siscovick D, Lind BK et al. Clinical factors associated with calcific aortic valve disease. Cardiovascular Health Study. *J Am Coll Cardiol* 1997 ; 29 : 630-634.
6. Novaro GM, Mills RM. Aortic valve disease. 2004 (available online at http : //www. cleveland clinicmeded.com/medicalpubs/diseasemanagement/cardiology/aortic_valve/aortic_valve.htm).
7. Mihaljevic TI, Sayeed MRI , Stamou SCI , Paul SI. Pathophysiology of aortic valve disease. In : Cohn LH, Edmunds LH Jr editors. *Cardiac Surgery in the Adult*. New York : McGraw-Hill, 2008, 825-840.
8. Balentine J, Eisenhart A. Aortic stenosis. In : Bessman E, Talavera F, Setnik G, Halamka J, Adler J editors. *eMedicine from Webmed*. 2007 (available online at http : //www. emedicine.com).
9. Prendergast B. Degenerative aortic stenosis : pathophysiological insights and the role of lipid lowering therapy. European Society of Cardiology. *E-Journal* 2005 ; 1 (17) (available online from : www.esocardio.org/knowledge/cardiology_practice).
10. Dal-Bianco JP, Khanheria BK, Mookadam F, Gentile F, Sengupta PP. Management of asymptomatic severe aortic stenosis. *J Am Coll of Cardiol* 2008 ; 52 (16) : 1279-1292.
11. Nkomo VT, Gardin JM, Skelton TN, Gottdiener JS, Scott CG, Enriquez-Sarano M. Burden of valvular heart diseases : a populationbased study. *Lancet* 2006 ; 368 : 1005-1011.
12. Cosmi JE, Kort S, Tunick PA et al. The risk of the development of aortic stenosis in patients with "benign" aortic valve thickening. *Arch Intern Med* 2002 ; 162 : 2345-2347.
13. Rosenhek R, Klaar U, Schemper M et al. Mild and moderate aortic stenosis. Natural history and risk stratification by echocardiography. *Eur Heart J* 2004 ; 25 : 199 -205.
14. Thom T, Haase N, Rosamond W et al. AHA Statistical update, heart disease and stroke statistics — 2006 update. A report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 2006 ; 113 : e85-e151.
15. Turina J, Hess O, Sepulcri F, Krayenbuehl HP. Spontaneous course of aortic valve disease. *Eur Heart J* 1987 ; 8 : 471- 483.
16. Horstkotte D, Loogen F. The natural history of aortic valve stenosis. *Eur Heart* J 1988 ; 9 Suppl E : 57-64.
17. Kelly TA, Rothbart RM, Cooper CM, Kaiser DL, Smucker ML, Gibson RS. Comparison of outcome of asymptomatic to symptomatic patients older than 20 years of age with valvular aortic stenosis. *Am J Cardiol* 1988 ; 61 : 123-130.
18. Iivanainen AM, Lindroos M, Tilvis R, Heikkila J, Kupari M. Natural history of aortic valve stenosis of varying severity in the elderly. *Am J Cardiol* 1996 ; 78 : 97-101.
19. Lindblom D, Lindblom U, Qvist J, Lundstrom H. Long-term relative survival rates after heart valve replacement. *J Am Coll Cardiol* 1990 ; 15 : 566 -573.
20. Bonow RO, Carabello BA, Chatterjee K et al. ACC/AHA 2006 guidelines for the management of patients with valvular heart disease : a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 1998 guidelines for the management of patients with valvular heart disease) developed in collaboration with the Society of Cardiovascular Anesthesiologists endorsed by the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions and the Society of Thoracic Surgeons. *J Am Coll Cardiol* 2006 ; 48 : e1-148.
21. Rosenhek R, Binder T, Porenta G et al. Predictors of outcome in severe, asymptomatic aortic stenosis. *N Engl J Med* 2000 ; 343 : 611-617.
22. Pai RG, Kapoor N, Bansal RC, Varadarajan P. Malignant natural history of asymptomatic severe aortic stenosis : benefit of aortic valve replacement. *Ann Thorac Surg* 2006 ; 82 : 2116 -2122.
23. Chizner MA, Pearle DL, deLeon AC Jr. The natural history of aortic stenosis in adults. *Am Heart J* 1980 ; 99 : 419-424.
24. Pellikka PA, Sarano ME, Nishimura RA et al. Outcome of 622 adults with asymptomatic, hemodynamically significant aortic stenosis during prolonged follow-up. *Circulation* 2005 ; 111 : 3290 -3295.
25. Baumgartner H. Aortic stenosis : medical and surgical management. *Heart* 2005 ; 91 : 1483-1488.
26. Selzer A. Changing aspects of the natural history of valvular aortic stenosis. *N Engl J Med* 1987 ; 317 : 91-98.

27. Galante A, Pietroiusti A, Vellini M et al. C-reactive protein is increased in patients with degenerative aortic valvular stenosis. *J Am Coll Cardiol* 2001 ; 38 : 1078-1082.
28. Otto CM, Kuusisto J, Reichenbach DD, Gown AM, O'Brien KD. Characterization of the early lesion of "degenerative" valvular aortic stenosis : histological and immunohistochemical studies. *Circulation* 1994 ; 90 (2) : 844-853.
29. O'Brien KD, Reichenbach DD, Marcovina SM, Kuusisto J, Alpers CE, Otto CM. Apolipoproteins B, (a), and E accumulate in the morphologically early lesion of 'degenerative' valvular aortic stenosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996 ; 16 (4) : 523-532.
30. O'Brien KD, Kuusisto J, Reichenbach DD et al. Osteopontin is expressed in human aortic valvular lesions. *Circulation* 1995 ; 92 (8) : 2163-2168.
31. Helske S, Kupari M, Lindstedt KA, Kovanen PT. Aortic valve stenosis : an active atheroinflammatory process. *Curr Opin Lipidol* 2007 ; 18 (5) : 483-491.
32. Spann JF, Bove AA, Natarajan G, Kreulen T. Ventricular performance, pump function and compensatory mechanisms in patients with aortic stenosis. *Circulation* 1980 ; 62 : 576-582.
33. Sasayama S, Ross J Jr., Franklin D, Bloor CM, Bishop S, Dilley RB. Adaptations of the left ventricle to chronic pressure overload. *Circ Res* 1976 ; 38 : 172-178.
34. Poulsen SH, Sogaard P, Nielsen-Kudsk JE, Egeblad H. Recovery of left ventricular systolic longitudinal strain after valve replacement in aortic stenosis and relation to natriuretic peptides. *J Am Soc Echocardiogr* 2007 ; 20 : 877-884.
35. Krayenbuehl HP, Hess OM, Ritter M, Monrad ES, Hoppeler H. Left ventricular systolic function in aortic stenosis. *Eur Heart J* 1988 ; 9 Suppl E : 19-23.
36. Stuber M, Scheidegger MB, Fischer SE et al. Alterations in the local myocardial motion pattern in patients suffering from pressure overload due to aortic stenosis. *Circulation* 1999 ; 100 : 361-368.
37. Otto CM, Pearlman AS, Gardner CL. Hemodynamic progression of aortic stenosis in adults assessed by Doppler echocardiography. *J Am Coll Cardiol* 1989 ; 13 : 545-550.
38. Roger VL, Tajik AJ, Bailey KR, Oh JK, Taylor CL, Seward JB. Progression of aortic stenosis in adults : new appraisal using Doppler echocardiography. *Am Heart J* 1990 ; 119 : 331-338.
39. Brener SJ, Duffy CI, Thomas JD, Stewart WJ. Progression of aortic stenosis in 394 patients : relation to changes in myocardial and mitral valve dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 1995 ; 25 : 305-310.
40. Beppu S, Suzuki S, Matsuda H, Ohmori F, Nagata S, Miyatake K. Rapidity of progression of aortic stenosis in patients with congenital bicuspid aortic valves. *Am J Cardiol* 1993 ; 71 : 322-327.
41. Roberts WC, Ko JM. Frequency by decades of unicuspid, bicuspid, and tricuspid aortic valves in adults having isolated aortic valve replacement for aortic stenosis, with or without associated aortic regurgitation. *Circulation* 2005 ; 111 : 920 -925.
42. Ross J Jr., Braunwald E. Aortic stenosis. *Circulation* 1968 ; 38 : 61-67.
43. Pellikka PA, Nishimura RA, Bailey KR, Tajik AJ. The natural history of adults with asymptomatic, hemodynamically significant aortic stenosis. *J Am Coll Cardiol* 1990 ; 15 : 1012-1017.
44. Otto CM, Burwash IG, Legget ME et al. Prospective study of asymptomatic valvular aortic stenosis. Clinical, echocardiographic, and exercise predictors of outcome. *Circulation* 1997 ; 95 : 2262-2270.
45. Cheitlin MD, Armstrong WF, Aurigemma GP et al. ACC/AHA/ ASE 2003 guideline update for the clinical application of echocardiography-summary article : a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (ACC/AHA/ASE Committee to Update the 1997 Guidelines for the Clinical Application of Echocardiography). *J Am Coll Cardiol* 2003 ; 42 : 954 -970.
46. Quinones MA, Otto CM, Stoddard M, Waggoner A, Zoghbi WA. Recommendations for quantification of Doppler echocardiography : a report from the Doppler Quantification Task Force of the Nomenclature and Standards Committee of the American Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2002 ; 15 : 167- 184.
47. Otto CM. Valvular aortic stenosis : disease severity and timing of intervention. *J Am Coll Cardiol* 2006 ; 47 : 2141-2151.

48. Skjaerpe T, Hegrenaes L, Hatle L. Noninvasive estimation of valve area in patients with aortic stenosis by Doppler ultrasound and two-dimensional echocardiography. *Circulation* 1985 ; 72 : 810–818.
49. Pibarot P, Dumesnil JG. Assessment of aortic stenosis severity : check the valve but don't forget the arteries ! *Heart* 2007 ; 93 : 780 –782.
50. Kadem L, Dumesnil JG, Rieu R, Durand LG, Garcia D, Pibarot P. Impact of systemic hypertension on the assessment of aortic stenosis. *Heart* 2005 ; 91 : 354–361.
51. Currie PJ, Seward JB, Reeder GS et al. Continuous-wave Doppler echocardiographic assessment of severity of calcific aortic stenosis : a simultaneous Doppler-catheter correlative study in 100 adult patients. *Circulation* 1985 ; 71 : 1162–1169.
52. Baumgartner H, Stefenelli T, Niederberger J, Schima H, Maurer G. "Overestimation" of catheter gradients by Doppler ultrasound in patients with aortic stenosis : a predictable manifestation of pressure recovery. *J Am Coll Cardiol* 1999 ; 33 : 1655– 1661.
53. Ge S, Warner JG Jr., Abraham TP et al. Three-dimensional surface area of the aortic valve orifice by three-dimensional echocardiography : clinical validation of a novel index for assessment of aortic stenosis. *Am Heart J* 1998 ; 136 : 1042–1050.
54. Goland S, Trento A, Iida K et al. Assessment of aortic stenosis by three-dimensional echocardiography : an accurate and novel approach. *Heart* 2007 ; 93 : 801–807.
55. Kasprzak JD, Nosir YF, Dall'Agata A et al. Quantification of the aortic valve area in three-dimensional echocardiographic data sets : analysis of orifice overestimation resulting from sub-optimal cut-plane selection. *Am Heart J* 1998 ; 135 : 995–1003.
56. Menzel T, Mohr-Kahaly S, Kolsch B et al. Quantitative assessment of aortic stenosis by three-dimensional echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 1997 ; 10 : 215–223.
57. Alkadhi H, Wildermuth S, Plass A et al. Aortic stenosis : comparative evaluation of 16-detector row CT and echocardiography. *Radiol* 2006 ; 240 : 47–55.
58. Pouleur AC, le Polain de Waroux JB, Pasquet A, Vanoverschelde JL, Gerber BL. Aortic valve area assessment : multidetector CT compared with cine MR imaging and transthoracic and transesophageal echocardiography. *Radiol* 2007 ; 244 : 745–754.
59. John AS, Dill T, Brandt RR et al. Magnetic resonance to assess the aortic valve area in aortic stenosis : how does it compare to current diagnostic standards ? *J Am Coll Cardiol* 2003 ; 42 : 519 –526.
60. Malyar NM, Schlosser T, Barkhausen J et al. Assessment of aortic valve area in aortic stenosis using cardiac magnetic resonance tomography : comparison with echocardiography. *Cardiol* 2008 ; 109 : 126 –134.
61. Pouleur AC, le Polain de Waroux JB, Pasquet A, Vancraeynest D, Vanoverschelde JL, Gerber BL. Planimetric and continuity equation assessment of aortic valve area : head to head comparison between cardiac magnetic resonance and echocardiography. *J Magn Reson Imaging* 2007 ; 26 : 1436–1443.
62. Tanaka K, Makaryus AN, Wolff SD. Correlation of aortic valve area obtained by the velocity-encoded phase contrast continuity method to direct planimetry using cardiovascular magnetic resonance. *J Cardiovasc Magn Reson* 2007 ; 9 : 799–805.
63. Caruthers SD, Lin SJ, Brown P et al. Practical value of cardiac magnetic resonance imaging for clinical quantification of aortic valve stenosis : comparison with echocardiography. *Circulation* 2003 ; 108 : 2236–2243.
64. Bruch C, Stypmann J, Grude M, Gradaus R, Breithardt G, Wichter T. Tissue Doppler imaging in patients with moderate to severe aortic valve stenosis : clinical usefulness and diagnostic accuracy. *Am Heart J* 2004 ; 148 : 696 – 702.
65. Giorgi D, Di Bello V, Talini E et al. Myocardial function in severe aortic stenosis before and after aortic valve replacement : a Doppler tissue imaging study. *J Am Soc Echocardiogr* 2005 ; 18 : 8-14.
66. Galema TW, Yap SC, Geleijnse ML et al. Early detection of left ventricular dysfunction by Doppler tissue imaging and N terminal pro-B-type natriuretic peptide in patients with symptomatic severe aortic stenosis. *J Am Soc Echocardiogr* 2008 ; 21 : 257–261.
67. Van Pelt NC, Stewart RA, Legget ME et al. Longitudinal left ventricular contractile dysfunction after exercise in aortic stenosis. *Heart* 2007 ; 93 : 732–738.

68. Iwahashi N, Nakatani S, Kanzaki H, Hasegawa T, Abe H, Kitakaze M. Acute improvement in myocardial function assessed by myocardial strain and strain rate after aortic valve replacement for aortic stenosis. *J Am Soc Echocardiogr* 2006 ; 19 : 1238–1244.
69. Nagel E, Stuber M, Burkhard B et al. Cardiac rotation and relaxation in patients with aortic valve stenosis. *Eur Heart J* 2000 ; 21 : 582–589.
70. Biederman RW, Doyle M, Yamrozik J et al. Physiologic compensation is supranormal in compensated aortic stenosis : does it return to normal after aortic valve replacement or is it blunted by coexistent coronary artery disease ? An intramyocardial magnetic resonance imaging study. *Circulation* 2005 : 112 : 1429 –1436.
71. Van Der Toorn A, Barenbrug P, Snoep G et al. Transmural gradients of cardiac myofiber shortening in aortic valve stenosis patients using MRI tagging. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002 ; 283 : H1609–H1615.
72. Omar RZ, Ambler G, Royston P, Eliahoo J, Taylor KM. Cardiac surgery risk modeling for mortality : a review of current practice and suggestions for improvement. *Ann Thorac Surg* 2004 ; 77 : 2232–2237.
73. Romhilt DW, Estes EH Jr. A point-score system for the ECG diagnosis of left ventricular hypertrophy. *Am Heart J* 1968 ; 75 : 752–758.
74. Casale PN, Devereux RB, Alonso DR, Campo E, Kligfield P. Improved sex – specific criteria of left ventricular hypertrophy for clinical and computer interpretation of electrocardiograms : validation with autopsy findings. *Circulation* 1987 ; 75 : 565-572.
75. Hameed W, Hussain M, Aslam M, Aziz S, Shamaun Razi M, Badar A. Sensitivity and specificity of romhilt-estes point score system for detecting left ventricular hypertrophy. *Pakistan Armed Forces Med J* 2005 ; 1 . available online at http : //www.pafmj.org/printdetail.php ? id=62&t=o.
76. Das P, Rimington H, Chambers J. Exercise testing to stratify risk in aortic stenosis. *Eur Heart J* 2005 ; 26 : 1309 –1313.
77. Goldman L, Hashimoto B, Cook EF, Loscalzo A. Comparative reproducibility and validity of systems for assessing cardiovascular functional class : advantages of a new specific activity scale. *Circulation* 1981 ; 64 : 1227–1234.
78. Sanchez PL, Santos JL, Kaski JC et al. Grupo AORTICA. Relation of circulating C-reactive protein to progression of aortic valve stenosis. *Am J Cardiol* 2006 ; 97 : 90-93.
79. Sanchez PL, Mazzone AM. C-reactive protein in degenrative aortic valve stenosis. *Cardiovasc Ultrasound* 2006 ; 4 : 24 (available online at www.cardiovascular ultrasound. com/content/4/I/24).
80. Bozbas H, Yildirir A, Atar I et al. Effects of serum levels of novel atherosclerotic risk factors on aortic valve calcification. *J Heart Valve Dis* 2007 ; 16 (4) : 387-393.
81. Bozbas H, Yildirir A, Demir O et al. Serum gamma-glutamyltransferase activity is increased in patients with calcific aortic valve stenosis. *J Heart Valve Dis* 2008 ; 17 (4) : 371-375.
82. Bjřrnstad JL, Neverdal NO, Vengen OA et al. Alterations in circulating activin A, GDF-15, TGF-beta3 and MMP-2, -3, and -9 during one year of left ventricular reverse remodelling in patients operated for severe aortic stenosis. *Eur J Heart Fail* 2008 Nov 6. (Epub ahead of print)
83. Maeda K, Tsutamoto T, Wada A, Hisanaga T, Kioshita M. Plasma brain natriuretic peptide as a biochemical marker of high left ventricular enddiastolic pressure in patients with symptomatic left ventricular dysfunction. *Am Heart J* 1998 ; 135 : 825-832.
84. Bergler-Klein J, Klaar U, Heger M et al. Natriuretic peptides predict symptom-free survival and postoperative outcome in severe aortic stenosis. *Circulation* 2004 ; 109 : 2302– 2308.
85. Cemri M, Arslan U, Kocaman SA, Cengel A. Relationship between N-terminal pro-B type natriuretic peptide and extensive echocardiographic parameters in mild to moderate aortic stenosis. *J Postgrad Med* 2008 ; 54 (1) : 12-16.
86. Jette AM, Davies AR, Cleary PD et al. The Functional Status Questionnaire : reliability and validity when used in primary care. *J Gen Intern Med* 1986 ; 1 : 143–149.
87. Bermejo J, Odreman R, Feijoo J, Moreno MM, Gomez-Moreno P, Garcia-Fernandez MA. Clinical efficacy of Doppler-echocardiographic indices of aortic valve stenosis : a comparative test-based analysis of outcome. *J Am Coll Cardiol* 2003 ; 41 : 142–151.

88. Amato MC, Moffa PJ, Werner KE, Ramires JA. Treatment decision in asymptomatic aortic valve stenosis : role of exercise testing. *Heart* 2001 ; 86 : 381–386.

89. Lancellotti P, Lebois F, Simon M, Tombeux C, Chauvel C, Pierard LA. Prognostic importance of quantitative exercise Doppler echocardiography in asymptomatic valvular aortic stenosis. *Circulation* 2005 ; 112 : 1377–1382.

90. Messika-Zeitoun D, Aubry MC, Detaint D et al. Evaluation and clinical implications of aortic valve calcification measured by electron beam computed tomography. *Circulation* 2004 ; 110 : 356–362.

91. Feuchtner GM, Muller S, Grander W, et al. Aortic valve calcification as quantified with multislice computed tomography predicts shortterm clinical outcome in patients with asymptomatic aortic stenosis. *J Heart Valve Dis* 2006 ; 15 : 494–498.

92. Movahed MR, Hashemzadeh M, Jamal M. Type II diabetes mellitus is independently associated with non-rheumatic aortic valve stenosis or regurgitation. *Chest* 2005 ; 128 (4) : supll. 44-48.

93. Pandele GI. *Semiologie medicală.* vol. II. Iaşi : Editura Cantes, 2005, 266-268.

94. Belovici MI, Pandele GI. Arterial media calcification in patients with type 2 diabetes mellitus. *Rev Med Chir Soc Med Nat* 2008 ; 112 (1) : 21-34.

95. Ionescu SD, Sandru V, Artenie R et al. Implications of some risk factors in degenerative valvular heart diseases. *Rev Med Chir Soc Med Nat* 2004 ; 108 (2) : 311-313.

96. Shavelle DM, Takasu J, Budoff MJ, Mao S, Zhao XQ, O'Brien KD. HMG CoA reductase inhibitor (statin) and aortic valve calcium. *Lancet* 2002 ; 359 (9312) : 1125-1126.

97. Rosenhek R, Rader F, Loho N et al. Statins but not angiotensin-converting enzyme inhibitors delay progression of aortic stenosis. *Circulation* 2004 ; 110 : 1291-1295.

98. Cowell SJ, Newby DE, Prescott RJ et al. Scottish Aortic Stenosis and Lipid Lowering Trial, Impact on Regression (SALTIRE). A randomized trial of intensive lipid-lowering therapy in calcific aortic stenosis. *N Engl J Med* 2005 ; 352 (23) : 2389-2397.

99. Moura LM, Ramos SF, Zamorano JL et al. Rosuvastatin affecting aortic valve endothelium to slow the progression of aortic stenosis. *J Am Coll Cardiol* 2007 ; 49 (5) : 554-561.

100. Rossebř AB, Pedersen TR, Allen C et al. Design and baseline characteristics of the simvastatin and ezetimibe in aortic stenosis (SEAS) study. *Am J Cardiol* 2007 ; 99 (7) : 970-973.

101. Rossebř AB, Pedersen TR, Boman Ket al. SEAS Investigators. Intensive lipid lowering with simvastatin and ezetimibe in aortic stenosis. *N Engl J Med* 2008 ; 359 (13) : 1343-1356.

102. Griffin BP. Statins in aortic stenosis : new data from a prospective clinical trial. *J Am Coll Caridiol* 2007 ; 49 : 562-564.

103. O'Brien KD, Shavelle DM, Caulfield MT et al. Association of angiotensin-converting enzyme with low density lipoprotein in aortic valvular lesions and in human plasma. *Circulation* 2002 ; 106 : 2224-2230.

104. Newby DE, Cowell SJ, Boon NA. Emerging medical treatments for aortic stenosis : statins, angiotensin converting enzyme inhibitors, or both ? *Heart* 2006 ; 92 (6) : 729-734.

105. O'Brien KD, Probstfield JL, Caulfield MT et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitors and change in aortic valve calcium. *Arch Intern Med* 2005 ; 165 : 858-862.

106. Jiménez-Candil J, Bermejo J, Yotti R et al. Effects of angiotensin converting enzyme inhibitors in hypertensive patients with aortic valve stenosis : a drug withdrawal study. *Heart* 2005 ; 91 (10) : 1311-1318.

107. Chambers J. The left ventricle in aortic stenosis : evidence for the use of ACE inhibitors. *Heart* 2006 ; 92 (3) : 420-423.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE **ACTUALITĂŢI**

STATINELE ŞI DISFUNCŢIA ENDOTELIALĂ

Florina-Mihaela Filip-Ciubotaru[1], **Carmen Manciuc**[2], **Liliana Foia**[3]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Disciplina de Medicina Familiei
2. Disciplina de Boli Infecţioase
Facultatea de Medicină Dentară
3. Disciplina de Biochimie

STATINS AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTION (Abstract) : Studies carried out to determine the abilities of statins showed that they have multiple cholesterol-independent benefits, named pleiotropic. These effects are highly diverse and assume such properties as the improvement of endothelial dysfunction, damaged by multiple pathologic conditions, with secondary increase in NO bioavailability. Also at endothelial level, statins have the ability of diminishing the adhesion molecules expression, thus having an indirect vasodilatator role. Their antioxidant ability is manifest in various ways : decreases the superoxide radical anion production, fact that theoretically makes them useful in the treatment of other conditions like dyslipidemia or cardiovascular diseases. Their antiinflammatory role is complex and consists, among others, in the increase of antiinflammatory cytokines production, diminution of the action of the pro-inflammatory ones, and decrease of monocyte recruitment. **Conclusion** : From this perspective, we believe the understanding of the innermost mechanisms through which statins act, their effects, and their use in other therapeutic schemes than the already accepted ones is useful.

Key words : STATINS, ENDOTHELIAL DYSFUNCTION, ACTION MECHANISMS, THERAPEUTIC PROSPECTS

Efectele benefice ale statinelor asupra profilului lipidic şi al afecţiunilor cardiovasculare sunt de notorietate. Mecanismul primar al acţiunilor exercitate de statine în bolile cardiovasculare constă în scăderea biosintezei hepatice de colesterol sub acţiunea hidroxi-metilglutaril-coenzima A reductazei (HMG-CoA reductaza), etapă limitantă a acestei căi (1,2). Beneficiile clinice ale statinelor pot fi, cel puţin în parte, independente de scăderea biosintezei de colesterol, aşa numitele efecte pleiotrope. Terapia cu statine are efecte benefice si asupra peretelui vascular concretizate în îmbunătăţirea funcţiei endoteliale, creşterea biodisponibilităţii de oxid nitric (NO), efecte antioxidante, antiinflamatoare ş.a. (3,4).

În cele ce urmează, lucrarea prezintă unele mecanisme moleculare care afectează funcţia endotelială şi efectele terapeutice ale statinelor.

FUNCŢIILE ENDOTELIULUI VASCULAR ŞI FACTORI IMPLICAŢI ÎN DISFUNCŢIA ENDOTELIALĂ

Endoteliul, monostrat de celule alungite care căptuşesc vasele sanguine, este localizat strategic între peretele vascular sanguin şi fluxul sanguin. Privit iniţial ca o barieră selectivă de difuzie a macromoleculelor din sânge în spaţiul interstiţial, astăzi este considerat o structură dinamică, cu rol cheie într-o mare varietate de funcţii senzoriale, secretorii şi metabolice (5). Celulele endoteliale participă activ şi reactiv în menţinerea homeostaziei vasculare, reglarea tonusului vascular, permeabilităţii vasculare, activităţii anticoagulante, modularea inflamaţiei, ş.a. (6,7,8).

Factorii de risc implicaţi în disfuncţia endotelială includ: dislipidemia (9), hipertensiunea (10), fumatul şi îmbătrânirea (11), diabetul zaharat (12), antecedente heredocolaterale de ateroscleroză prematură ş.a. (1).

Funcţia vasomotorie a endoteliului este reglată de substanţe vasoactive vasodilatatoare şi vasoconstrictoare produse de endoteliu (13) (tab. I). Răspunsul vasodilatator scăzut este determinat de: generarea redusă de NO, exces oxidativ, producere redusă de factori de hiperpolarizare şi de exprimare a moleculelor de adeziune care contribuie nu numai la iniţierea dar şi la evoluţia plăcii aterosclerotice (14).

NO ŞI DISFUNCŢIA ENDOTELIALĂ

Disfuncţia endotelială este provocată de afectarea echilibrului între vasodilatare şi vasoconstricţie, între inhibarea şi promovarea proliferării şi migrării celulelor muşchiului neted, între prevenirea şi stimularea adeziunii şi a agregării plachetare ş.a. (15,16).

Disfuncţia endotelială este asociată cu sinteza, eliberarea şi activitatea mediatorului difuzibil paracrin din endoteliu - NO, un puternic vasodilatator. În celulele endoteliale sunt identificate două tipuri de NOS (nitric oxide synthase) care catalizează sinteza NO din L-arginină: tipul 2 (NOS-2, iNOS) citokin-inductibilă şi tipul 3 (NOS-3, eNOS), constitutivă.

Scăderea biodisponibilităţii NO asociată cu afectarea funcţiei endoteliale este consecinţa a două mecanisme: activitate redusă a eNOS sau sinteza redusă a enzimei. Mecanismul fundamental de scădere a biodisponibilităţii NO în peretele vascular, prezentat de diferite publicaţii (17) se datorează inactivării NO de către $O_2^{\bullet-}$ (anion radical superoxid)(10).

În condiţii de stres oxidativ, considerat mecanismul major implicat în patogeneza disfuncţiei endoteliale, NO şi $O_2^{\bullet-}$ formează peroxinitrit ($ONOO^-$) (18) agent oxidant puternic care prin nitrarea proteinelor le afectează funcţia şi în consecinţă funcţia endotelială. Peroxinitritul este şi un important mediator al oxidării C-LDL, iar LDLox (LDL oxidate), la rândul lor, inhibă exprimarea eNOS (19). Alte specii antioxidative ca H_2O_2 creşte activitatea eNOS prin mecanism posttranslaţional şi posttranscripţional (20) şi contribuie la reglarea fiziologică a tonusului vascular în unele paturi vasculare (21). La aceasta se adaugă sinteză redusă de NO datorită deficienţei de substrat L-arginină sau a cofactorului H4B (tetrahidrobiopterină) (22) care conduce la eNOS decuplată şi ca urmare sinteză redusă de NO.

NO este în echilibru cu endotelina (Et-1) care reglează tonusul vascular (23). ROS reglează câteva clase de gene inclusiv acelea care controlează formarea moleculelor de adeziune, substanţe chemotactice şi enzime antioxidative, activează metaloproteinaze şi înclină echilibrul endotelial spre vasoconstricţie. În afară de NO, ROS pot inhiba şi alţi vasodilatatori endoteliu-dependenţi ca prostaciclina şi EDHF (endothelium-derived hyperpolarizing factor).

TABELUL I

Reglarea tonusului vascular

Vasodilatatoare	Vasoconstrictoare	Modulatorii inflamaţiei
NO (oxid nitric) Prostaciclina Factori de hiperpolarizare din endoteliu Peptidul natriuretic tip C	Endotelina-1 (ET-1) Angiotensina II (Ang II) Tromboxan A2 ROS	NO ICAM-1 ICAM-2 VCAM-1 PECAM Selectine -E şi -P NF-kB

LDL OXIDATE

Altă cauză majoră a disfuncţiei endoteliale asociată cu condiţii proaterogene este modificarea oxidativă a LDL (24). Prejudiciul endotelial, activarea şi disfuncţia determinată de LDLox în patogeneza aterosclerozei este exercitată prin activarea receptorului LOX 1 (lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1) (25). În condiţii de hipercolesterolemie, hipertensiune, care generează afectare vasculară, LOX-1 este exprimat semnificativ în vasele sanguine (26). LDLox prin reglarea pozitivă a LOX-1 induc adeziunea monocitelor la endoteliu prin creşterea exprimării ICAM-1, VCAM-1 şi a selectinelor, stimulează eliberarea de chemokine şi factori de creştere ai muşchiului neted cu consecinţa afectării vasorelaxării endoteliu-dependentă (25). De asemenea, LDLox care se leagă la LOX-1 induc creşterea producerii intracelulare de ROS, modularea activităţii MMP (matrix metalloproteinase) şi creează condiţii care favorizează compromiterea capului fibros al ateromului (27). Disfuncţia endotelială indusă de LDLox precede modificările morfologice tisulare şi reprezintă unul din iniţiatorii vasculopatiei şi aterosclerozei (28). Exprimarea crescută a LOX-1 dovedită atât în faza iniţială cât şi în leziunile aterosclerotice avansate se datorează capacităţii de a lega produşi care induc inflamaţia şi activarea endotelială (29). Activarea endotelială duce la recrutarea de neutrofile printr-o cascadă de multe etape care implică "rostogolirea" ("rolling") leucocitelor, adică traversarea capilarelor la o rată mai scăzută decât cea a eritrocitelor, adeziune şi în final migrarea transendotelială a acestora (30). Inducţia exprimării LOX-1 este mediată de antagonişti ai NO: endotelina-1, angiotensina II. Un număr substanţial de date atestă că ROS sunt reglatori potenţiali ai exprimării moleculelor de adeziune din celulele endoteliale (31), iar Rho GTP-aza este factor de reglare a funcţiei moleculelor de adeziune (32).

INFLAMAŢIA ŞI DISFUNCŢIA ENDOTELIALĂ

În cazul aterosclerozei, considerată mult timp ca o afecţiune pur lipidică, se admite că acţiunile combinate între inflamaţie şi stresul oxidativ sunt implicate în iniţierea, evoluţia şi complicaţiile cardiovasculare. Caracterul de boală multifactorială, este datorat acţiunilor combinate ale citokinelor inflamatorii, moleculelor de adeziune, chemokinelor şi a altor chemoatractanţi (33)

În patogeneza aterosclerozei, multe dovezi indică rolul interacţiunii leucocite-celule endoteliale. Atragerea şi fixarea leucocitelor circulante la endoteliul vascular şi apoi migrarea în spaţiul subendotelial, procese majore în dezvoltarea aterosclerozei, sunt coroborate cu exprimarea şi/sau activarea diferitor familii de molecule de adeziune de la suprafaţa celulelor endoteliale vasculare (34), reprezentate de: ICAM-1 (*intercellular adhesin molecule-1*), VCAM (*vascular adhesion molecule-1*), PECAM (*platelet and endothelial cell adhesion molecule*), selectina E (ELAM, *endothelial leucocite adhesion molecule*), selectina P, NF-kB (*nuclear factor-kappa B*) (35).

Selectinele mediază iniţial acţiunea de "*rolling*" a leucocitelor la endoteliu, iar VCAM-1 şi ICAM-1 deţin rol important în ataşarea şi migrarea transendotelială a leucocitelor. Selectinele care mediază acest comportament al leucocitelor, sunt exprimate pe leucocite (selectina-E), plachete (selectina-P), şi celulele endoteliale (selectinele E şi P). Selectina-E fiind constitutivă, se exprimă după sinteza *de novo* (după 4-6 ore) în celulele endoteliale activate de citokine inflamatorii: Il-1 (*interleukine-1*) sau

TNF-α (*tumoral necrosis factor-â*) (36). Selectina-P este depozitată în granulele á ale plachetelor şi corpii Weibel-Palade ale celulelor endoteliale de unde poate fi rapid (câteva minute) redistribuită la suprafaţa acestor celule după stimularea cu agonişti ca trombina şi ADP (37). Exprimarea selectinelor E şi P, VCAM-1, ICAM-1 este reglată pozitiv şi de LDLox prin activarea LOX-1. Pe măsură ce forţele adezive dintre leucocite şi celulele endoteliale se consolidează, leucocitele devin ferm ataşate şi rămân pe peretele vascular unde apare migrarea endotelială. Fiecare stadiu al recrutării leucocitelor este mediat de diferite familii de molecule care sunt exprimate pe leucocite sau celulele endoteliale (38).

Interacţiunile leucocite-celule endoteliale (rostogolirea, aderenţa şi migrarea transendotelială) sunt rezultatul exprimării crescute a ICAM-1, VCAM-1 şi a selectinei P de pe suprafaţa celulelor endoteliale activate (39). In mod normal, foarte puţin ICAM-1 este exprimat pe celulele endoteliale. Atât macrofagele cât şi celulele endoteliale produc ICAM-1 ca răspuns la citokine inflamatorii Il-1, TNF-α, interferon-γ).

Exprimarea VCAM-1 se limitează în principal la celulele endoteliale (40) unde mediază adeziunea monocitelor şi a limfocitelor T, dar prezintă niveluri mai mici decât ICAM-1. Exprimarea la suprafaţa celulelor circulante poate creşte semnificativ prin mecanisme redox-sensibile, inductibile, dependente de NF-kB.

NF-kB este un factor nuclear transcripţional cu rol important în bolile vasculare (inflamaţie cronică şi localizată, ateroscleroză ş.a.(41). NF-kB, prezent în citoplasmă ca trimer inactiv, cu una din subunităţi reprezentată de inhibitorul IkB. NF-kB este rapid activat (în formă dimerică) ca răspuns la diferiţi factori şi stimuli ca TNF-α, Il-1, hiperglicemie, lipide oxidate, stres oxidativ hipoxie/reperfuzie (41). Dimerul rezultat, după proteoliza inhibitorului-IkB, migrează în nucleu şi se leagă La ADN (42). În urma acestui proces, genele implicate în răspunsul inflamator sintetizează molecule chemoatractante, molecule de adeziune, enzime proinflamatorii (43). NF-kB este necesar, dar singur nu este suficient pentru reglarea exprimării genelor inflamatorii. Reglarea transcripţională a NF-kB implică în parte, interacţiuni fizice cu alţi factori de transcripţie sau cu activatori transcripţionali (41).

PECAM este prezentă pe celulele endoteliale, leucocite şi plachete şi nu răspunde la citokine. Ea intervine în reglarea migrării transendoteliale a leucocitelor (44,45).

Există dovezi care implică inflamaţia şi moleculele de adeziune în patogenia bolilor cardiovasculare (ateroscleroză, infarct miocardic, accidente ischemice). Exprimarea moleculelor de adeziune pe celulele endoteliale şi/sau nivelul crescut în circulaţie sunt asociate cu hipercolesterolemia, hipertensiunea, diabetul (45,46,47,48).

Formele circulante ale VCAM-1 şi ICAM-1 şi selectinele sunt prezente în plasmă, dar originea lor nu este clară. Nivelul lor plasmatic creşte, ca urmare a exprimării crescute în celulele endoteliale şi în alte tipuri de celule (49).

Celulele endoteliale stimulate produc şi MCP-1 (*monocyte chemotactic protein-1*) (50), factor stimulator al coloniei de monocite şi Il-6 care amplifică ulterior cascada inflamaţiei (51).

Scăderea NO şi excesul oxidativ pot activa enzime proteolitice de tip MMP, în principal MMP-2 şi MMP-9 (52) care acţionează asupra matricei extracelulare a celulei endoteliale. Destabilizarea matricei este necesară pentru recrutarea monocitelor deoarece transmigrarea prin endoteliu cere distrugerea membranei bazale. Enzima din plasmă creşte semnificativ în circulaţia coronariană a pacienţilor cu infarct miocardic şi angină instabilă (53).

Înţelegerea mecanismelor şi mediatorilor disfuncţiei endoteliale şi a inflamaţiei pot oferi noi semnale de predicţie, prevenţie şi tratament a afecţiunilor cardiovasculare.

EFECTELE STATINELOR ASUPRA DISFUNCŢIEI ENDOTELIALE ŞI MECANISME DE ACŢIUNE

Efectele pleiotrope ale statinelor (54), nu sunt secundare efectului hipolipidemiant. Acestea sunt atât efecte directe cât şi efecte asociate cu reducerea fracţiei C-LDL. Efectele pleiotrope ale statinelor sunt mediate de blocarea producerii de derivaţi intermediari izoprenoidici, precum farnesil-PP şi geranilgeranil-PP din calea de biosinteză a colesterolului ca urmare a inhibării sintezei de mevalonat din HMG-CoA. Izoprezii sunt lipide de ataşare pentru molecule semnal intracelulare implicate în modificarea posttranslaţională a unor proteine. În această mediere pot interveni şi proteinele mici Rho, Rac, Ras, care leagă GTP. Localizarea convenabilă şi funcţiile lor sunt dependente de modificarea posttranslaţională prin izoprenilare (55). Inhibarea izoprenilării Rho mediază efectele colesterol-independente ale statinelor în celulele peretelui vascular. Printre efectele pleiotrope ale statinelor sunt incluse: îmbunătăţirea funcţiei endoteliale, efecte antioxidante, creşterea biodisponibilităţii NO, proprietăţi antiinflamatoare (56).

Creşterea biodisponibilităţii NO. Efectele moleculare şi celulare ale statinelor la nivel endotelial constau în creşterea activităţii eNOS şi a biodisponibilităţii NO, însoţite de scăderea exprimării moleculelor de adeziune (35) a căror beneficiu este vasodilatarea. Unul din mecanismele importante de îmbunătăţire a funcţiei vasomotorii a statinelor este efectul antioxidant (57) care creşte nivelul NO prin prevenirea degradării acestuia de către ROS. Astfel, Giroux et al.(58) au arătat că în culturi de ţesuturi simvastatina a diminuat formarea $O_2^{\bullet-}$ şi oxidarea LDL în macrofagele umane. Scăderea exprimării eNOS indusă de LDLox este blocată de statine. Faptul că în culturi de celule aceste medicamente nu schimbă concentraţia lipidelor sugerează că efectul asupra exprimării eNOS se face printr-un mecanism independent de scăderea lipidelor (59,60). Statinele nu numai că favorizează sinteza eNOS, dar previne degradarea enzimei prin scăderea caveolinei-1 endoteliale, proteină aptă să deactiveze eNOS (61). În afară de inversarea efectelor inhibitorii ale LDLox asupra eNOS, statinele au efect antioxidant direct atât *in vitro* cât şi *ex vivo*. Metaboliţii hidroxi ai atorvastatinei, dar nu şi compusul parental, inhibă oxidarea lipoproteinelor (62). Alt mecanism include stabilizarea eNOSmARN (63) şi scăderea producerii de ROS care inactivează NO (64). Reducerea de către statine a disfuncţiei endoteliale care implică, cel puţin în parte, inhibarea izoprenilării Rho, Rac, Ras, are ca rezultat creşterea stabilizării eNOSmARN (65). Reglarea pozitivă a exprimării eNOS de către mevastatină este mediată de inhibarea RhoGTPazei (64). Familia RhoGTPazei (Rho A, Rho B, Rac) este substrat major pentru modificarea posttranslaţională prin geranilgeranilare, inhibată de statine (67). În studii experimentale, s-a dovedit că dozele mari de statine exercită efecte lipid-independente şi prin inhibarea integrinelor care blochează ciclul celular al celulelor inflamatorii şi creşterea generării NO prin inhibarea Rho/Rhokinazei (68).

Efectele antiinflamatoare ale statinelor. Efectele moleculare şi celulare ale statinelor asupra inflamaţiei se concretizează prin eliberarea de citokine antiinflamatorii (Il-4, Il-10) şi diminuarea: activării macrofagelor/monocitelor, producerii de proteine chemoatractante (MCP-1) eliberării de citokine inflamatorii (Il-1, Il-6, Il-8, TNF-α, interferon-γ), eliberării de enzime proteolitice proinflamatoare (MMP-1, MMP-2, MMP-9) (35,69).

Studii efectuate in vitro cu celule de muşchi neted şi monocite au confirmat că statinele scad activarea NF-kB şi exprimarea MCP-1 (70). La pacienţi cu ateroscleroză carotidiană trataţi timp de o lună cu atorvastatină (80 mg/zi) s-au diminuat mediatorii inflamatori sanguini (activitatea NF-kB şi exprimarea MCP-1 şi COX-2), în celulele mononucleare sanguine din periferie (71). Tratamentul cu 40 mg/zi pravastatină timp de 3 luni nu a afectat activitatea NF-kB în placa aterosclerotică carotidiană, ceea ce ar sugera că numai tratamentul intensiv cu statine are efect antiinflamator mai rapid decât dozele moderate (72).

Fluvastatina a inhibat exprimarea ICAM-1 în monocitele umane (73), iar atorvastatina şi simvastatina a redus nivelul plasmatic de ICAM-1,VCAM-1, selectină-E şi -P la pacienţi cu boli arteriale coronariene (74). Hipercolesterolemia severă şi ateroscleroza sunt asociate cu niveluri crescute ale moleculelor de adeziune circulante care sunt reduse după tratament cu simvastatină datorită scăderii exprimării lor (75). Pretratarea cu simvastatină a redus semnificativ nivelul ICAM-1 şi ELAM-1 după by-pass arterial, printr-un mecanism ce nu pare legat de eficacitatea în scăderea nivelului de colesterol (76). În culturi de monocite, simvastatina şi atorvastatina (1 µM) au inhibat reglarea pozitivă a ICAM-1 şi migrarea monocitelor prin inhibarea căii HMG-CoA reductazei - ERK1/2 (*ERK-extracellular signal-regulated kinase*) (77). Există şi date neconcordante, privind modificarea moleculelor de adeziune şi a eficacităţii statinelor, justificate fie prin numărul mic de pacienţi luaţi în studiu, fie datorită faptului că diferite molecule de adeziune, deşi au mecanisme comune de reglare, necesită factori reglatori suplimentari în diferite celule, cum este cazul exprimării VCAM-1 care poate fi reglată pozitiv de acizi graşi şi lizofosfatidil-colină (78).

De asemenea, statinele diminuează exprimarea şi funcţia unor MMP (MMP-1, MMP-2, MMP9) enzime proteolitice implicate în procesul de migrare al monocitelor/ macrofagelor (79).

CONCLUZII

Statinele reprezintă o familie de medicamente cu mecanisme de acţiune diverse, cele mai multe benefice, ceea ce le recomandă şi în tratamentul altor patologii decât dislipidemiile şi ateroscleroza.

BIBLIOGRAFIE

1. Greandy SM. HMG-CoA reductase inhibitors for treatment of hypercholesterolemia. *N Engl J Med* 1998 ; 319 : 24-33.
2. Istvan E. Statin inhibition of HMG-CoA reductase : a 3-dimensional view. *Atheroscler (suppl.)* 2003 ; 4 : 3-8.
3. Fukumoto Y, Libby P, Rabkin E. Statins alter smooth muscle cell accumulation and collagen content in established atherom of watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Circulation* 2001 ; 103 : 993-999.
4. Takimoto M, Liao JK. Pleiotropic effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors, *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001 ; 21 : 1712-1719.
5. Cines DB, Pollak ES, Buck CA et al. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood* 1998 ; 91 : 3527-3561.
6. Davignon J, Laaksonen R. Low-density lipoprotein-independent effects of statins. *Curr Op Lipidol* 1999 ; 10 : 543-559.
7. Widlansky ME, Gokce N, Keaney LF. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003 ; 42 (9) : 1149-1160.
8. Galley HF, Webster NR. Physiolgy of endothelium. *Br J Anaest* 2004 ; 93 : 105-113.
9. Engler MM, Engler MB, Malloy MJ et al. Antioxidant vitaminC and E improve endothelial function in children with hiperlipidemia : endothelial assessement of risk from lipids in yourth (EARLV) trial. *Circulation* 2003 ; 108 : 1059-1063.
10. Cai H, Harrison DG, Endothelial dysfunction in cardiovascular disease. *Circ Res* 2000 ; 87 : 840-44.
11. Celermajer DS, Adams MR, Clarkson P et al. Passive smoking and impaired endothelium-dependent arterial dilation in healthy young adults. *N Engl J Med* 1996 ; 34 : 150-54.
12. Balletshofer BM, Ritting K, Enderle MD et al. Endothelial dysfunction is detectable in young normotensive first-degree relations of subjects with type 2 diabetes in association with insulin resistence. *Circulation* 2000 ; 101 : 1780-84.
13. Verma S, Anderson TJ. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. *Circulation* 2002 ; 105 : 546-49.
14. Griendling KK, Fitz Geralg GA. Oxidative stress and cardiovascular injury Part II. Animal and human study. *Circulation* 2003 ; 108 : 2034-40.
15. Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation* 2004 ; 109 : III-27-32.
16. Félétou M, Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction : a multifaceted disorder. *Am J Heart Circ Physiol* 2006 ; 291 : H985-H1002.
17. Puddu GM, Cravero E, Arnone G, Muscari A. Molecular aspects of atherogenesis : new insights and unsolved questions. *J Biochem Sci* 2005 ; 12 : 839-853.
18. Koppenol WH, Moreno JJ, Pryor WA, Ischirocopoulos H, Beckman JS. Peroxinitrite, a cloaked oxidant formed by nitric oxide and superoxide.*Chem Res Toxicol* 1992 ; 5 : 834-842.
19. Keaney JF, Guo Y, Cunningham D, Shwaery GT, Xu A, Vita JA. Vascular incorporation of alpha-tocopherol prebente endothelial dysfunction due to oxidized LDL by inhibiting proteon kinase C stimulation. *J Clin Invest* 1996 ; 98 : 386-394.
20. Drummond GR, Cai H, Davis ME, Ramasamy S, Harrison DG. Translational and posttranscriptional regulation of endothelial nitric oxidase expression by hidrogen peroxide. *Circ Res* 2000 ; 86 : 347-354.
21. Miura H, Bosnjak JJ, Ning G, Saito T, Miura M, Gutterman DD. Role for hydrogen peroxide in flow-induced dilation of human coronary arteriols. *Circ Res* 2003 ; 92 : e31-e40.
22. Milstien S, Katusic Z. Oxidation of tetrahydrobiopterin by peroxinitrite. Implications for vascular endothelial function. *Biochem Biophys Res Commun* 1999 ; 263 : 681-684.
23. Teplyakov AI. Endothelin-1 onvolved in systemic cytokine network inflammatory response at atherosclerosis. *J Cardiovasc Pharmacol* 2004 ; 44 (suppl. 1) : S274-S275.
24. Ross R. Atherosckerosis : an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999 ; 340 : 115-126.
25. Chen M, Musaki T, Sawamura T. LOX-1, receptor for oxidized low.density lipoprotein identified from endothelial cells : implications in endothelial dysfunction and atherosclerosis. *Pharmacol Ther* 2002 ; 95 : 89-100.
26. Mehta JL, Li D. Identification, regulation and functions of a novel lectin- like oxidized low-density lipoprotein receptor. *J Am Coll Cardiol* 2002 ; 39 : 1429-1435.
27. Li D, Liu L, Chen H et al. LOX-1 mediates oxidized low-density lipoprotein-induced expression of matrix metalloproteinases in human coronary artery endothelial cells. *Circulation* 2003 ; 107 : 612-617.
28. Inoue K, Arai Y, Kurihara H, Kita T, Sawamura T. Overexpression of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 induces intramitocondrial vasculopathy in apolipoprotein E-nul mice. *Circ Res* 2005 ;97 : 176-184.
29. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002 ; 420 ; 868-874.
30. Girn HRS, Ahilathirunayagam S, Mavor AID, Homer-Vannaiasinkam S. Reperfusion syndrome : Cellular mechanisms of microvascular dysfunction and potential therapeutic strategies. *Vasc Endovasc Surg* 2007 ; 41 (4) : 277-293.
31. Godin C, Caprani A, Dufaux J, Flaud P. Interaction between neutrophils and endothelial cell. *J Cell Sci* 1993 ; 106 : 441-451.
32. Lum H, Roebuck KA. Oxidant stress and andothelial cell dysfunction. *Am J Physiol* 2001 ; 280 : 719-740.
33. Barlic J, Murphy PM. Chemokine regulation of atherosclerosis. *J Leukoc Biol* 2007 ; 82 : 226-36.
34. Albelda SM, Smith CW, Ward PA. Adhesion molecular and inflammatory injury. *FASEB J* 1994 ; 8 : 504-512.

35. Perler BA. Should statins be given rourinely before carotid endarterectomy. *Persp Vasc Surg Endovasc Ther* 2007 ; 19 (3) : 240-245.
36. Etter H, Althaus R, Eugster HP, Santamaria-Babi LF, Weber L, Moser R. Il-4 and Il-13 downregulate rolling adhesion of leukocytes Il-1 or TNF-á-activated endothelial cells by limiting the interval of E-selectin expression. *Cytokine* 1998 ; 10 : 395-403.
37. Wagner DD. The Weibel-Palade body : the storage branule for von Willebrand factor and P. selectin. *Thromb Haemost* 1993 ; 70 : 105-110.
38. Adams DH, Shaw S. Leucocite-endothelial interactions and regulation of leucocyte migration. *Lancet* 1994 ; 343 : 831-836.
39. Gauthier TW, Scalia R, Murohara T, Guo JP, Lefer AM. Nitric oxide protects against leucocyte-endothelium interactions in the early stages of hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995 ; 15 : 1652-1659.
40. Davis MJ, Gordon JL, Gearing AJ et al. The expression of the adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1, PECAM, and E-selectin in human atherosclerosis. *J Pathol* 1993 ; 171 : 223-229.
41. deMartin R, Hoeth, Hofer-Warbinee R, Schmid JA. The transcription factor NF-kB and the regulation of vascular cell function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000 ; 20 : e83-e88.
42. Henkel T, Machleidt T, Alkalay I et al. Rapid proteolysis of IkB-á is necessary for activation of transcription factor NF-kB. *Nature* 1993 ; 290 : 297-308.
43. Koh KK, Oh CP, Quon MJ. Does reversal of oxidative stress and inflammation provide vascular protection ? *Cardiovasc Res* 2009 ; 81 : 649-659.
44. Ross R. Atherosclerosis : An inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999 ; 340 : 115-126.
45. Krieglstein CF, Grager DN. Adhesion molecules and their role in vascular disease. *Am J Hypertens* 2001 ; 14 : 44S-54S.
46. Stokes KY, Kooper D, Tailor A, Granger DN. Hypercholesterolemia promotes inflammation and microvascular dysfunction : role of nitric oxide and superoxide. *Free Radic Biol Med* 2002 ; 33 : 1026-1036.
47. Milvihil NT, Foley JB, Crean P, Walsh M. Prediction of cardiovascular risk using soluble cell adhesion molecules. *Eur Heart J* 2002 ; 23 : 1569-1574.
48. Meydani M. Soluble adhesion molecules : surrogate markers of cardiovascular disease ? *Nutr Rev* 2003 ; 61 : 63-68.
49. Nakai K, Itoh C, Kawazae K et al. Concentration of soluble vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) correlated with expression of VCAM-1mARN in human atherosclerotic aorta. *Coron Artery Dis* 1996 ; 6 : 497-502.
50. Romano M, Diomede L, Sironi M et al. Inhibition of monocite chemotactic protein-1 synthesis by statins. *Lab Invest* 2000 ; 80 (7) : 1095-1100.
51. Bevilacqua MP, Gimbrone MAjr. Inducible endothelial finctions in inflammation and coagulation. *Semin Thromb Hemost* 1987 ; 13 : 425-433.
52. Uemura S, Matsushita H, Li W et al. Diabetes mellitus enhances vascular matrix metalloproteinase activity : role of oxidative stress. *Circ Res* 2001 ; 88 : 1291-1298.
53. Inocubo Y, Hanada H, Ishizaka H et al. Plasma level of matrix metalloproteinase-1 are increased in the coronary circulation in patients with acute coronary syndrome. *Am Heart J* 2001 ; 141 : 211-217.
54. Tuńón J, Egido J. Endothelial dysfunction, inflammation, and statins.New evidence. *Rev Esp Cardiol* 2004 ; 57 (10) : 903-905.
55. Liao KJ, Laufs U. Pleiotropic effects of statins. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 2005 ; 45 : 89-118.
56. Nickenig G. Should angiotensin II receptor blokers and statins be combined. *Circulation* 2004 ; 110 : 1013-1020.
57. Adam O, Laufs U. Antioxidative effects of statins. *Arch Toxicol* 2008 ; 82 : 885-892.
58. Giroux LM, Davignon J, Naruszewiez I. Simvastatin inhibits the oxidation of low-density lipoproteins by activated human monocyte-derived macrophages. *Biochim Biophys Acta* 1993 ; 1165 : 335-338.
59. Treasure CB, Klein JL, Weintraub WS et al. Beneficial effects of cholesterol-lowering therapy on the coronary endothelium in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1995 ; 332 : 481-487.

60. Hernández-Perera O, Pérez-Sala D, Navarro-Antolin J et al. Effects of the 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase inhibitors, atorvastatin and simvastatin on the expression of endothelin-1 and endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *J Clin Invest* 1998 ; 101 : 2711-2719.
61. Feron O, Dessy C, Desager JP et al. Hydroxy-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibition promotes endothelial nitric oxide synthase activation through a decrease in caveolin abundance. *Circulation* 2001 ; 103 : 113-118.
62. AviramM, Rosenblat M, Bisgaier CL et al. Atorvastatin and gemfibrozil metabolites, but not the parental drugs, are potent antioxidants against lipoprotein oxidation. *Atherosclerosis* 1998 ; 138 : 271-280.
63. Laufs U, La FataV, Plutzky J, Liao JK. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG-CoA reductase inhibitors. *Circulation* 1998 ; 97 : 1129-1135.
64. Wassmann S, Laufs U, Bäumer et al. HMG-CoA reductase inhibitors improve endothelial dysfunction in normocholesterolemic hypertension via reduced production of reactive oxygen species. *Hypertension* 2001 ; 37 : 1450-1457.
65. Li M, Losordo DV. Statins and the endothelium. *Vascul Pharmacol* 2007 ; 46 : 1-9.
66. Laufs U, Liao JK. Post-transcripţional regulation of endothelial nitric oxide synthase mARN stability by RhoGTPase. *J Biol Chem* 1998 ; 273 (37) : 24266-24271.
67. Eto M, Kozai M, Cosentino F, Joch H, Lüscher TF. Statins prevents tissue factor expression in human endothelial cells. Rho of Rho/Rho-kinase and Akt pathway. *Circulation* 2002 ; 105 : 1756-1759.
68. Frenete PS. Locking a leucocyte integrin with statin. *N Engl J Med* 2001 ; 345 : 1419-1421.
69. Wolfrum S, Jensen SK, Liao KJ. Endothelium-dependent effects of statins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003 ; 23 : 729-736.
70. Ortega M, Bustos C, Hernández -Presa MA et al. Atorvastatin reduces NF-kB activtion and chemokine expression in vascular smooth muscle cells and mononuclear cells. *Atherosclerosis* 1999 ; 147 : 253-261.
71. Martin-Ventura JL, Blanco-Clio LM, Gómez-Hernández A et al. Intensive treatment with atorvastatin reduces inflammation in mononuclear cells and human atherosclerotic lesions in one month. *Stroke* 2005 ; 36 : 1796-1800.
72. Crisby M, Nordin-Fredriksson G, Shah Pk, Yano J, Zhu J, Nilson J. Pravastatin treatment increases collagen content and decrease lipid content, inflammation, metalloproteinases, and cell death in human carotid plaques ; implications for plaque stabilization. *Circulation* 2001 ; 103 : 926-933.
73. Niwa S, Totsuka T, Hayashi S. Inhibitory effect of fluvastatin, molecules on human monocyte cell line. *Int J Immunopharmacol* 1996 ; 18 : 669-675.
74. Seljeflot I, Tonstad S, Hjermann I, Arnesen H. Reduced expression of endothelial cell markers after 1 year treatment with coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2002 ; 162 : 179-185.
75. Sardo MA, Castaldo M, Cinquegrani M et al. Effects of simvastatin treatment on sICAM-1 and sE-selectin levels in hypercholesterolemic subjects. *Atherosclerosis* 2000 ; 155 : 143-147.
76. Chello M, Carassiti M, Agio F et al. Simvastatin blunts the increase of circulating adhesion molecules after coronary artery bypass surgery. *Anesthesis* 2004 ; 18 (5) : 605-609.
77. Montecucco F, Burger F, Pelli G et al. Statins inhibit C-reactive protein-induced chemokine secretion, ICAM-1 upregulation and Chemotaxis in adherent human monocytes. *Rheumatol* 2009 ; 48 : 233-242.
78. Kume N, Cybulsky MI, Gimbrone MAjr. Lysophosphatidyl-choline, a component of atherogenic lipoproteins, induces mononuclear leucocyte adhesion molecules in cultured human and rabbit arterial endothelial cells. *J Clin Invest* 1992 ; 90 : 1138-1144.
79. Koch KK1 Effects of statins on vascular wall : vasomotor function, inflammation, and plaque stability. *Cardiovasc Res* 2000 ; 47 : 648-657.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE ACTUALITĂŢI

INSUFICIENŢA RENALĂ ACUTĂ - PREZENT ŞI PERSPECTIVE

Mihaela Busuioc[1], P. Gusbeth-Tatomir[1,2], A. Covic[1,2]
Spitalul Clinic "Dr. C.I. Parhon" Iaşi
1. Clinica a IV-a Medicală-Nefrologie
Universitaea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
2. Clinica a IV-a Medicală-Nefrologie

ACUTE RENAL FAILURE - PREZENT AND PERSPECTIVE (Abstract): Acute kidney injury is a common complication in hospitalized patients, and its incidence has risen significantly in the past 15 yr. Despite significant technical advances in therapeutics, the mortality and morbidity rates associated with acute kidney injury remain dismally high and have not appreciably improved during the past four decades. An ideal biomarker for acute kidney injury would help clinicians and scientists diagnose the most common form of acute kidney injury, acute tubular necrosis, early and accurately and may aid to risk stratify patients with acute kidney injury by predicting the need for renal replacement therapy, the duration of acute kidney injury, the length of stay, and mortality. The major types of urinary biomarkers fall into three classes: 1) inflammatory; 2) renal tubular proteins that are excreted into the urine after injury; 3) surrogate markers of tubular injury. There has been increasing interest in the identification and validation of novel biomarkers of acute kidney injury that permit earlier and more accurate diagnosis. **Key words**: ACUTE KIDNEY DISEASE, URINARY BIOMARKERS, EARLY DIAGNOSIS

Insuficienţa renală acută (IRA) este o complicaţie frecventă la pacienţi spitalizaţi iar incidenţa ei a crescut semnificativ în ultimii 15 ani (1,2,3). În ciuda tehnicilor terapeutice avansate, rata mortalităţii şi morbidităţii asociate cu IRA, rămâne crescută şi nu s-a îmbunătăţit în ultimele patru decenii. IRA este un sindrom care până de curând nu a avut o definiţie larg acceptată. Totuşi un diagnostic şi o clasificare standard a IRA este necesară. O definiţie consensuală şi un sistem de clasificare au fost propuse de curând, referitor la criteriile de diagnostic bazate pe modificările creatininei serice şi/sau modificările urinare, pentru clasificarea diferitelor stadii ale leziunilor renale. Aceste diferite stadii sunt reunite sub acronimul RIFLE (*risk, injury, failure, loss, ESRD*).

De notat, clasificarea RIFLE a IRA a avut iniţial în intenţie standardizarea severităţii şi definirea IRA. IRA este un sindrom definit printr-un declin rapid al ratei de filtrare glomerulară, caracterizat clinic printr-o creştere impotantă a ureei şi creatininei serice.

Diagnosticul clasic al IRA implică aproximarea ratei filtrarii glomerulare (RFG), exprimată prin creşterea creatininei serice. RFG poate fi influenţată de diferiţi factori renali sau non-renali (fig. 1).

În IRA, creatinina serică este un marker ce nu reflectă în întregime modificarea funcţiei renale din trei motive:

1. un număr mare de glomeruli poate fi pierdut fără modificarea creatininei serice datorită existenţei unei „rezerve renale" (1,2);

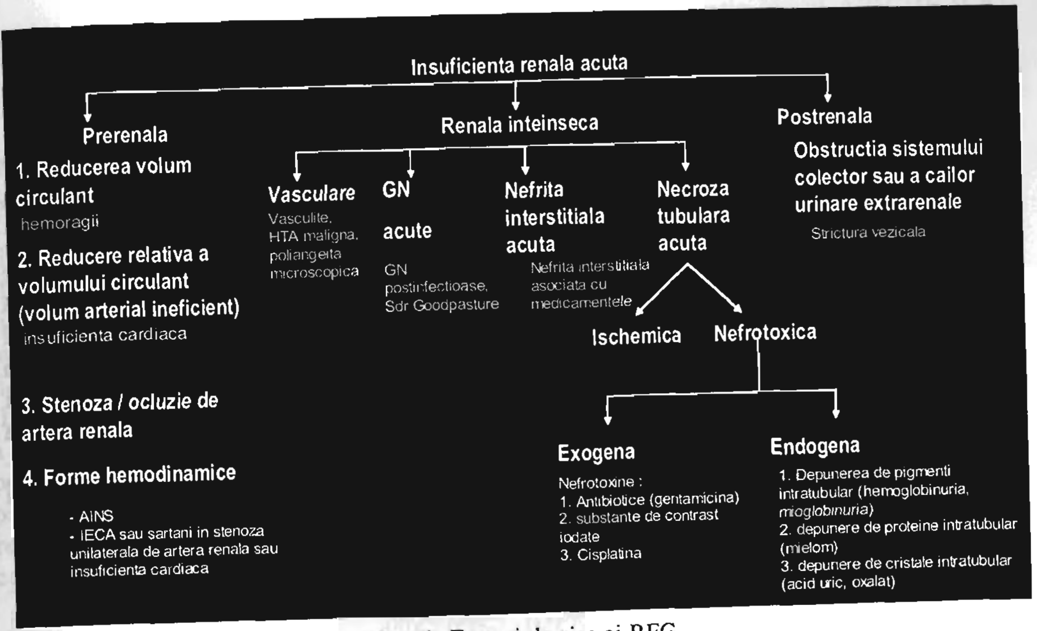

Insuficienta renala acuta
Prerenala
1. Reducerea volum circulant
hemoragii
2. Reducere relativa a volumului circulant (volum arterial ineficient)
insuficienta cardiaca
3. Stenoza / ocluzie de artera renala
4. Forme hemodinamice
- AINS
- IECA sau sartani in stenoza unilaterala de artera renala sau insuficienta cardiaca
Renala inteinseca
Vasculare
Vasculite, HTA maligna, poliangeita microscopica
GN acute
GN postinfectioase, Sdr Goodpasture
Nefrita interstitiala acuta
Nefrita interstitiala asociata cu medicamentele
Necroza tubulara acuta
Ischemica
Nefrotoxica
Exogena
Nefrotoxine :
1. Antibiotice (gentamicina)
2. substante de contrast iodate
3. Cisplatina
Endogena
1. Depunerea de pigmenti intratubular (hemoglobinuria, mioglobinuria)
2. depunere de proteine intratubular (mielom)
3. depunere de cristale intratubular (acid uric, oxalat)
Postrenala
Obstructia sistemului colector sau a cailor urinare extrarenale
Strictura vezicala

Fig. 1. Factori de risc ai RFG

2. rata creşterii creatininei, la fiecare pacient cu IRA, depinde de: a) rata conversiei non-enzimatice a creatininei şi fosfocreatininei în muşchii scheletici; b) circulaţia, filtrarea şi excreţia creatininei în urină şi c) creşterea creatininei în sânge (3);

3. creatinina serică este influenţată de câţiva factori non-renali incluzând greutatea, rasa, vârsta, genul, medicaţia şi aportul proteic (4).

TABELUL I

Factori de risc IRA

Statusul clinic	Definiţia IRA	Identificarea factorilor de risc
Cateterism cardiac	Creşterea SCr >0,5 mg/dL	Vârstnici şi niveluri bazale SCr > 1,2
Cateterism cardiac, vârsta >70 ani, intervenţie coronariană percutană	Creştere SCr >0,5 mg/dL	Substanţa de contrast >200 mL, albumina serică <3,5 mg/dL, diabet, SCr >1,5, NYHA cls III/IV
Arteriografie femurală	Creştere SCr >0,3 mg/dL	Diabet, niveluri bazale SCr >1,5 mg/dL
Intervenţie coronariană percutană	Necesită dializă	Cl Creatinină scăzut, diabet, substanţă contrast
Intervenţie coronariană percutană	Necesită dializă	IM non Q, grefă coronariană cu venă safenă, creşterea postintervenţie a SCr, substanţă contrast
Intervenţie coronariană percutană	Creştere SCr >0,5 mg/dL	Vârstnic, CHF, IM, substanţă de contrast, arteriopatie periferică
Intervenţie coronariană percutană	Creştere SCr >0,5 mg/dL	hTA, balon de contrapulsaţie, CHF, anemie, substanţă de contrast
Interventie coronariană percutană pentru IMA	Creştere SCr >0,5 mg/dL	Vârsta >75 ani, timp de reperfuzie >6 ore, balon de contrapulsaţie, substanţă de contrast
Sepsis	>75% creştere a SCr	Hipoalbuminemie, cancer activ
Sepsis	Creştere SCr cu 2 mg/dL	pH <7,3, SCr >1 mg/dL/zi, vârstnic
Amfotericina B	Creştere SCr >50%	Ciclosporina, amfotericina în doză maximă

Identificarea rapidă a tipului de afectare renală este foarte utilă pentru tratamentul şi prevenţia insuficienţei renale. Răspunsul biologic al rinichiului la afectarea ischemică sau toxică poate fi utilizat ca indicator rapid al afectării renale. O arie extrem de promiţătoare în viitor este cea legată de analiza urinii prin prisma biomarkerilor.

Răspunsul biologic al rinichiului la afectarea ischemică sau toxică poate fi utilizat ca indicator rapid al afectării renale. Urina comparativ cu serul şi plasma este folosită pentru identificarea rapidă a markerilor afectării renale.

Factori de risc IRA

Un biomarker este o caracteristică biologică, ce este măsurat şi evaluat ca un indicator al unui proces normal sau patogenic sau ca răspuns farmacologic la intervenţia terapeutică. Un biomarker ideal poate fi util pentru clinician şi în diagnosticul precoce a celei mai frecvente forme de IRA (necroză tubulară acută). Potenţialii biomarkeri pot reflecta inflamaţia tubulară, modificări în excreţia de proteine tubulare renale ce apar în urină după lezarea renală sau pot reflecta disfuncţia tubulară prin apariţia de proteine sau enzime în urină ce sunt filtrate în mod normal la nivel glomerular dar reabsorbite sau metabolizate în tubuli (tab. I).

Biomarkerii nu numai că ajută la diagnosticul diferenţial al IRA prin diferenţierea leziunilor tubulare de alte forme de leziuni renale (e.g. glomerulare), dar pot, de asemenea, identifica localizarea leziunii tubulare (proximal vs distal), cauza (ischemie vs toxic) şi stadiul (acut vs cronic) bolii renale. De asemenea, biomarkerii pot ajuta la stadializarea riscului pacienţilor cu IRA prin prezicerea necesităţii de supleere renală, a duratei IRA, a duratei de spitalizare şi a mortalităţii.

Cea mai importantă promisiune pentru domeniul biomarkerilor o reprezintă detectarea în stadiile precoce (Risk şi Injury) a IRA, înainte de a fi decelabil în ser un nivel crescut al creatininei, astfel încât determinarea rapidă să permită tratamentul pacienţilor cu risc crescut de a dezvolta IRA : intervenţii chirurgicale cardiace, primitor de grefă renală de la cadavru, utilizarea de substanţe de contrast intraarterial.

Identificarea pacienţilor cu ATN şi care au disfuncţie prerenală reversibilă sau boală cronică de rincichi în momentul evaluării unei creşteri acute a creatininei rămâne în continuare una dintre cele mai frecvente şi importante dileme clinice. Vom detalia în continuare critic stadiul actual al cunoştinţelor legat de domeniul biomarkerilor în diagnosticul IRA.

Biomarkerii inflamaţiei

Neutrophil gelatinaza asociată lipocalinei (NGAL), cunoscut ca lipocalin 2 ori siderocalin, este o proteină 25-kD covalent legată la gelatinaza neutrofilelor. NGAL este exprimat în mod normal la niveluri foarte reduse în mai multe ţesuturi, cum ar fi rinichii, plamânii, stomacul sau colonul. Într-un studiu cross-secţional pe 57 adulţi, NGAL urinar a fost crescut de 25 ori la pacienţii cu IRA în comparaţie cu pacienţii cu IRC sau cu lotul de control fără IRA (5). La copiii care au suferit intervenţii chirurgicale cardiace (6) şi la adulţii transplantaţi de la donator cadaveric (7), concentraţia de NGAL a prezis cu acurateţe riscul apariţiei IRA (la copii cu sezitivitate de 1,0 şi specificitate 0,98 la 2 ore după intervenţia chirurgicală ; la adulţi, senzitivitate 0,9 şi specificitate 0,83. În contrast, studiile următoare nu au mai arătat rezultate atât de evidente, cu senzitivitate şi specificitate în detecţia IRA <80% în cohortele de adulţi ce au suferit intervenţii cardiace (chirurgie cardiacă, intervenţii coronariene percutane) (8) şi în cohortele de copii în stare critică (9).

Din nefericire, până în prezent, studiile nu au diferenţiat între cauzele de IRA ; este posibil ca NGAL urinar să fie crescut în IRA faţă de forme de ATN (REF) ; aceeaşi problematică este evidentă în cazul IRA prerenale sau obstructive – lipsa de discriminare etiologică (REF).

IL-18 este o citokină proinflamatorie care este indusă în tubul proximal în IRA cu o importantă componentă inflamatorie. Cistein proteaza intracelulară converteşte citokinele IL-1α şi IL-18 în forma lor activă (10,11). Forma activă a IL-18 iese din celulă şi poate intra în urină după ce este activată în tubii proximali. Într-un studiu cross-secţional de 72 pacienţi cu diferite boli renale, IL-18 urinar a fost semnificativ mai mare şi a avut o sensibilitate şi o specificitate înaltă pentru diagnosticarea ATN versus azotemie prerenală, infecţie tract urinar, boli cronice renale şi funcţie renală normală în lotul de control (12).

Ulterior s-a demonstrat că IL18 are o senzitivitate scăzută dar o specificitate crescută (0,85 la 0,94) (13,14,15) funcţie de timpul recoltării în relaţie cu expunerea la stres medico-chirurgical (chirurgie cardiacă, detresă respiratorie acută).

Per ansamblu, IL-18 oferă rezultate medii în detectarea precoce a IRA în 4 grupe populationale diferite (adulţi care au suferit intervenţii chirurgicale cardiace, copii în stare critică, adulţi cu insuficienţă respiratorie acută şi adulţi transplantaţi renal) (7, 13,14,15).

Proteinele tubulare

KIM 1 (kidney injury molecule – 1) este o proteină transmembranară care este supraexprimată în celulele tubulare proximale în IRA ischemică (16) şi nefrotoxică (17) la animale. Studii de faza 2 confirmă creşterea nivelului de KIM 1 în IRA de cauză ischemică comparativ cu cei cu nefropatie de contrast ori alte forme de IRA, pacienţi cu boală cronică de rinichi (BRC) sau fără afectare renală. Într-un studiu recent a fost examinată relaţia între KIM-1 şi boala renală pe o cohortă de 201 pacienţi (18). Eliminarea urinară a KIM-1 este asociată unei AUC de 0,61 pentru predicţia evoluţiei bolii renale. Prin comparaţie scorul APACHE II a fost asociat unei AUC de 0,78 care a crescut uşor la 0,80 când s-a adăugat şi KIM-1.

NHE 3 (Na/K exchanger isoform 3) este cel mai important transportor de Na în tubii renali şi este localizat în membrana apicală a celulelor tubulare proximale. După ischemie şi/sau necroză concentraţia de NHE3 scade ducând la ipoteza că distrucţia tubulară în IRA are ca rezultat eliberarea de NHE 3 din membrana apicală în lumenul tubular şi excreţia în urină (19). Studii (20) demonstrează ca NHE 3 a fost crescut de 6 ori la pacienţii cu IRA (substanţă de contrast, cisplatin) în comparaţie cu lotul de control cu azotemie prerenala.

Cystatina C reprezintă cea mai bine studiată alternativă la creatinina serică ca marker endogen a ratei de filtrare glomerulară (GFR). Cystatina C este o proteină cu greutate moleculară mică produsă de toate celulele nucleate şi care este filtrată liber de către glomerul şi apoi reabsorbită în tubul proximal. Când celulele epiteliale ale tubului proximal sunt lezate, acestea nu mai metabolizează bine cystatina C, şi cystatina nemetabolizată poate fi găsită în urină. Mai multe studii sugerează că cystatina C este superioară creatininei serice în detectarea precoce a GRF (21,22,23,24). Concentraţia serică a cystatin C este dependentă nu numai de clearance, dar şi de rata de producţie şi de modificările acute ale volumului de distribuţie. Dozele crescute de corticosteroizi şi hipertiroidismul cresc concentraţiile serice de cystatin C iar, hipotiroidismul le reduce.

Într-un singur studiu cystatin C a fost comparat cu peptidul natriuretic proatrial (1-98), un prohormon circulant al peptidului natriuretic atrial ce a fost studiat ca un indicator al funcţiei renale la pacienţii cu insuficienţă cardiacă. La 29 pacienţi în stare critică cu sepsis, s-a raportat că pro-ANP (1-98) a fost superior cystatinei C în predicţia IRA (25).

În viitor, studiile clinice trebuie să verifice dacă biomarkerii IRA, care reflectă consecinţele importante ale leziunilor renale (necesitatea dializei, timpul de spitalizare, chiar moartea), corespund sau nu modificărilor creatininei serice sau altor markeri ai RFG.

Enzimele tubulare şi markerii disfuncţiei tubulare

Suprafaţa apicală a celulelor epiteliale ale tubilor proximali conţine numeroşi microvili ce formează marginea în perie şi care conţin proteine specifice pentru a îndeplini funcţiile speciale ale tubilor proximali. În urma lezării renale, aceste enzime tubulare se regăsesc adesea în urină. S-au găsit mai multe clase de astfel de enzime: proteine lizozomale, precum *N-acetyl-β-(D)-glucozaminidaza (NAG)*, enzime ale marginii în perie, incluzând *γ-glutamiltransferaza (GGT)* şi *fosfataza alcalină*, de asemenea proteine citozolice, cum ar fi *α-glutation s-transferaza (GST)* şi *π-GST*. În mod similar, celulele lezate nu mai rezorb eficace proteinele cu masă moleculară mică şi acestea sunt mult mai frecvent filtrate în urină, cum ar fi *α1* şi *β2-microglobulinele*.

În unele studii s-a comparat valoarea predictivă a numărului de enzime tubulare găsite pentru a evalua dezvoltarea IRA, definită ca o creştere cu 50% a creatininei serice la cel puţin 1,7 mg/dL. α- GST şi π-GST au avut valori mai mari la cei care au dezvoltat IRA (litotriţie extracorporeală, intervenţii cardiace, anevrism aortic, amfotericina B) faţă de cei din lotul martor.

Hergert-Rrosenthal et al. au împărţit pacienţii cu IRA non-oligurică (definită ca dublarea creatininei bazale de la <106 μmol/L la cel puţin 115 μmol/L) folosind enzimele tubulare ca biomarkeri (26). Ei au măsurat excreţia urinară a cystatinei C, α1 şi β2 microglobuline, α-GST, NAG, RBP, GGT, şi lactat dehidrogenaza în momentul intrării în studiu. În medie pacienţii au necesitat o şedinţă de dializă în ziua a 4-a după începerea studiului. Cystatin C şi α1-microglobulina (markeri ai funcţionării anormale a tubilor proximali) au avut cea mai bună valoare predictivă în ceea ce priveşte necesitatea instituirii dializei. Dintre enzimele tubulare studiate, NAG a avut cea mai bună valoare predictivă.

Modificarile nivelurilor enzimatice preced modificarile detectabile în timp ale clearence-ului creatininei. Totuşi când cercetătorii au încercat să generalizeze rezultatele studiilor, sensibilitatea şi specificitatea acestor biomarkeri a scăzut semnificativ. În plus timpul în care pacienţii au devoltat IRA după înregistrarea datelor a variat între 12h şi 4 zile, asa că momentul precis în care aceşti markeri încep să crească rămâne neclar. Sunt necesare alte studii care să determine predictibilitatea acestor markeri în populaţia generală (27,28).

Alţi markeri

Chemokinele derivate din keratinocite s-au descoperit, pe modele la şoareci, că îşi cresc concentraţia serică şi urinară în leziunile renale ischemice urmate de reperfuzie la 3 ore după eveniment (29). Măsurarea concentraţiilor urinare ale structurilor omoloage la oameni, denumite *growth-related oncogene-alpha* (Gro-alpha), într-un mic studiu pilot (n=17) la pacienţi transplantaţi renal; s-au găsit niveluri crescute ale markerilor la cei după transplant cu grefă recoltată de la cadavru. Zhou et al. şi-au concentrat atenţia pe exozomii urinari (mici vezicule excretate ce conţin membrane şi proteine citosolice) ca o sursă potenţială de noi biomarkeri (30). Fetuina-A exozomală a fost identificată la rozătoare într-un model preclinic de ischemie şi IRA cisplatin - indusă; un mic studiu pe 9 subiecţi umani a arătat că fetuin-A exozomală este prezentă în urina pacienţilor cu IRA dar nu şi la voluntarii sănatoşi fără IRA (30).

CONCLUZIE

IRA este o boala a carei frecvenţă creşte, cu complicaţii potenţial catastrofice. Incidenţa şi consecinţele IRA au crescut considerabil, rata mortalităţii rămânând încă foarte crescută. Pentru diagnosticul IRA se folosesc aceeaşi biomarkeri de câteva decenii (ureea şi creatinina). Pentru identificarea precoce a pacienţilor cu risc de IRA şi supravegherea lor în timp sunt necesare noi modalităţi de abordare în vederea diagnosticului şi stadializării riscului de apariţie a bolii. Prevenţia şi strategiile terapeutice vor fi facilitate de studiile clinice în desfăşurare în acest domeniu.

BIBLIOGRAFIE

1. Zarich S, Fang LS, Diamond JR. Fractional excretion of sodium: Exceptions to its diagnostic value. *Arch Intern Med* 1985; 145: 108–112.
2. Herrera J, Rodriguez-Iturbe B. Stimulation of tubular secretion of creatinine în health and în conditions associated with reduced nephron mass: Evidence for a tubular functional reserve. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 623–629.
3. Rapoport A, Husdan H. Endogenous creatinine clearance and serum creatinine in the clinical assessment of kidney function. *CMAJ 1968*; 99: 149–156.
4. Tomlanovich S, Golbetz H, Perlroth M, Stinson E, Myers BD. Limitations of creatinine in quantifying the severity of cyclosporine-induced chronic nephropathy. *Am J Kidney Dis* 1986; 8: 332–337.
5. Parikh CR, Jani A, Melnikov VY, Faubel S, Edelstein CL. Urinary interleukin-18 is a marker of human acute tubular necrosis. *Am J Kidney Dis* 2004; 43: 405–414.
6. Mishra J, Dent C, Tarabishi R et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet* 2005; 365: 1231–1238.
7. Parikh CR, Abraham E, Ancukiewicz M, Edelstein CL. Urine IL-18 is an early diagnostic marker for acute kidney injury and predicts mortality în the intensive care unit. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 3046–3052
8. Melnikov VY, Ecder T, Fantuzzi G et al. Impaired IL-18 processing protects caspase-1-deficient mice from ischemic acute renal failure. *J Clin Invest* 2001; 107: 1145–1152.
9. Fantuzzi G, Puren AJ, Harding MW, Livingston DJ, Dinarello CA. Interleukin-18 regulation of interferon gamma production and cell proliferation as shown în interleukin-1beta-converting enzyme (caspase-1)-deficient mice. *Blood* 1998; 91: 2118–2125.
10. Ichimura T, Bonventre JV, Bailly V, Wei H, Hession CA, Cate RL, Sanicola M. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated în renal cells after injury. *J Biol Chem 1998*; 273: 4135 –4142.
11. Ichimura T, Hung CC, Yang SA, Stevens JL, Bonventre JV, Guler H-P. Multicenter clinical trial of recombinant human insulin-like growth factor I in patients with acute renal failure. *Kidney Intv* 1999; 55: 2423–2432.
12. Kwon TH, Frokiaer J, Han JS, Knepper MA, Nielsen S. Decreased abundance of major Na(+) transporters în kidneys of rats with ischemia-induced acute renal failure. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000; 278: F925–F939.
13. Parikh CR, Jani A, Mishra J et al. Urine NGAL and IL-18 are predictive biomarkers for delayed graft function following kidney transplantation. *Am J Transplant* 2006; 6: 1639–1645.
14. Wagener G, Jan M, Kim M et al. Association between increases in urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. *Anesthesiol* 2006; 105: 485–491.
15. Zappitelli M, Washburn KK, Arikan AA et al. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early marker of acute kidney injury in critically ill children: A prospective cohort study. *Crit Care* 2007; 11: R84.
16. Parikh CR, Mishra J, Thiessen-Philbrook H et al. Urinary IL-18 is an early predictive biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery. *Kidney Int* 2006; 70: 199–203.

17. Washburn KK, Zappitelli M, Arikan AA et al. Urinary interleukin-18 is an acute kidney injury biomarker in critically ill children. *Nephrol Dial Transplant* 2008 ; 23 (2) : 566-572.
18. Westhuyzen J, Endre ZH, Reece G, Reith DM, Saltissi D. Measurement of tubular enzymuria facilitates early detection of acute renal impairment in the intensive care unit. *Nephrol Dial Transplant* 2003 ; 18 (3) : 543-551.
19. Chertow GM, Soroko SH, Paganini EP et al. Mortality after acute renal failure : Models for prognostic stratification and risk adjustment. *Kidney Int* 2006 ; 70 : 1120 -1126
20. Liangos O, Perianayagam MC, Vaidya VS et al. Urinary N-acetyl-beta-(D)-glucosaminidase activity and kidney injury molecule-1 level are associated with adverse outcomes în acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2007 ; 18 : 904-912.
21. Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Husing J et al. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney Int* 2004 ; 66 : 1115-1122.
22. Herget-Rosenthal S, Pietruck F, Volbracht L, Philipp T, Kribben A. Serum cystatin C : A superior marker of rapidly reduced glomerular filtration after uninephrectomy in kidney donors compared to creatinine. *Clin Nephrol* 2005 ; 64 : 41-46.
23. Villa P, Jimenez M, Soriano MC, Manzanares J, Casasnovas P. Serum cystatin C concentration as a marker of acute renal dysfunction în critically ill patients. *Crit Care* 2005 ; 9 : R139-R143.
24. Delanaye P, Lambermont B, Chapelle JP, Gielen J, Gerard P, Rorive G. Plasmatic cystatin C for the estimation of glomerular filtration rate în intensive care units. *Intensive Care Med* 2004 ; 30 : 980-983.
25. Mazul-Sunko B, Zarkovic N, Vrkic N et al. Proatrial natriuretic peptide (1-98), but not cystatin C, is predictive for occurrence of acute renal insufficiency în critically ill septic patients. *Nephron Clin Pract* 2004 ; 97 : c103 -c107.
26. Eijkenboom JJ, van Eijk LT, Pickkers P, Peters WH, Wetzels JF, van der Hoeven HG. Small increases în the urinary excretion of glutathione S-transferase A1 and P1 after cardiac surgery are not associated with clinically relevant renal injury. *Intensive Care Med* 2005 ; 31 : 664-667.
27. Hamada Y, Kanda T, Anzai T, Kobayashi I, Morishita Y. N-acetyl-beta-D-glucosaminidase is not a predictor, but an indicator of kidney injury în patients with cardiac surgery. *J Med* 1999 ; 30 : 329-336.
28. Molls RR, Savransky V, Liu M et al. Keratinocyte-derived chemokine is an early biomarker of ischemic acute kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006 ; 290 : F1187-F1193.
29. Zhou H, Pisitkun T, Aponte A et al. Exosomal Fetuin-A identified by proteomics : A novel urinary biomarker for detecting acute kidney injury. *Kidney Int* 2006 ; 70 : 1847-1857.
30. Herget-Rosenthal S, Poppen D, Husing J et al. Prognostic value of tubular proteinuria and enzymuria în nonoliguric acute tubular necrosis. *Clin Chem* 2004 ; 50 : 552-558.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

CONSIDERAŢII PRIVIND REACŢIILE ADVERSE ALE TERAPIEI SPECIFICE ÎN HEPATITA CRONICĂ CU VIRUS C

Cătălina Luca[1], Lucia Grigore[2], A. Vâţă[1], Carmen Dorobăţ[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Disciplina de Boli infecţioase
2. Spitalul Clinic de Boli infecţioase "Sf. Parascheva" Iaşi

CONSIDERATIONS ON ADVERSE REACTION OF SPECIFIC THERAPY OF CHRONIC HEPATITIS C (Abstract) : Hepatitis C virus infection is estimated to affect over 170 million people worldwide. Standard treatment for chronic HCV involves an interferon-based preparation and ribavirin for 24 to 48 weeks. These therapeutic regimens are associated with numerous adverse events, among which constitutional and neuropsychiatric symptoms, as well as hematological abnormalities, stand out. Adverse events resulting from the treatment of hepatitis C can jeopardize the quality of life of patients and their response to treatment. The control of those events involves medicinal and non-medicinal interventions. The latter include a reduction in the dosage of IFN or RBV and discontinuation of the treatment. **Key words** : PEGYLATED INTERFERON, RIBAVIRIN, THROMBOPENIA, HEPATITIS

Infecţia cronică cu VHC afectează aproximativ 170 milioane de persoane din lume (~3% din populaţia globului), având ca forme de manifestare în 20% din cazuri infecţii acute, 70% hepatite cronice, 40% ciroze hepatice decompensate, 60% carcinom hepatocelular, 40-50% din cazuri având indicaţie de transplant hepatic. Se preconizează o creştere a incidenţei infecţiei cu VHC de circa 4 ori în următorii 20 ani (1).

Scopul terapiei antivirale în hepatita cronică cu virus C constă în eradicarea replicării virale, ameliorarea leziunilor histologice hepatice, prevenirea progresiei bolii spre ciroză hepatică şi carcinom.

Obţinerea răspunsului virusologic susţinut (RVS), înseamnă absenţa ARN-VHC (limita de detecţie = 50 µi/mL) şi se constată la 24 de săptămâni posttratament.

Terapia combinată cu Interferon pegylat (PEG-IFN) şi Ribavirină este frecvent însoţită de efecte adverse, fiind asociată cu un RVS în 54-56% din cazuri pentru genotipul 1, 4 şi în 76-80% pentru genotipurile 2 şi 3 ale VHC (2).

Anticiparea, recunoaşterea şi managementul corelat al acestor efecte secundare nedorite asigură complianţa la terapie şi realizarea unui răspuns virusologic susţinut.

Efectele adverse ale terapiei combinate cu PEG-IFN şi Ribavirină conduc de cele mai multe ori la ajustarea dozelor de antivirale - 39% din cazuri şi uneori la întreruperea terapiei - 11% din cazuri (3).

Efectele secundare ale terapiei antivirale în hepatita cronică C pot fi clasificate în funcţie de :

- *severitate* : uşoare sau moderate (care apar în mod frecvent) ; de gravitate medie (care se întîlnesc la sub 10% din pacienţi şi necesită supraveghere şi uneori reajustarea dozelor) ; severe ; letale.
- *frecvenţă* : foarte frecvente > 10%, frecvente : 1 - 10%, mai puţin frecvente :

0,1 - 1%, rare: 0,01 - 0,1%, foarte rare: < 0,01%

- *de momentul apariţiei*: precoce - primele 4 săptămâni de terapie sau tardive.

REACŢIILE ADVERSE PRECOCE

Pot fi: constituţionale, dermatologice şi hematologice.

Cele *constituţionale* sunt cele mai comune, apărute imediat după prima doză administrată (primele 8-24 de ore), concretizându-se în: fatigabilitate, febră, mialgii, artralgii, frisoane, cefalee, greţuri.

Reacţiile *dermatologice* (efectele imunomodulatorii ale IFN) - datorate comportamentului aberant al limfocitelor T ce determină reacţii normale la stimuli obişnuiţi: eczema (60%), prurigo, prurit cutanat, alopecie reversibilă după întreruperea terapiei; fotosensibilizare după ribavirină. Aceste reacţii răspund bine la emoliente, corticosteroizi topici şi nu necesită scăderea dozei de interferon sau întreruperea terapiei.

Reacţiile adverse *hematologice* sunt: neutropenia, trombocitopenia şi anemia.

Neutropenia (< 1500/mm^3) constituie cel mai frecvent motiv de reducere a dozei de PEG-IFN (prin inhibiţie medulară directă). Incidenţa este de 21% în populaţie. La mai puţin de 750 neutrofile/mm^3 este necesară reducerea dozei de PEG-IFN cu 50%. La < 500 neutrofile/mm^3 este necesară oprirea terapiei până acestea cresc la 1000/mm^3, apoi reluarea administrării de PEG-IFN la 50% din doza iniţială.

TABELUL I

Frecvenţa efectelor adverse (2,4,5,6)

Reacţii adverse	% cazuri
Reacţii locale la locul injectării	36-58
Astenie	50-64
Cefalee	50-62
Mialgii	42-56
Febră	43-56
Frisoane	24-48
Alopecie	28-36
Artralgii	27-35
Iritabilitate	24-35
Depresie	21-34
Anorexie	14-32
Dermatite	16-21
Anemie	12-22
Neutropenie	17-20
Trombocitopenie severă	3-6

Neutropenia de grad 4 (< 500/mm^3) se întâlneşte la 5% dintre pacienţi, însoţindu-se de infecţii severe. Neutropenia se instalează rapid în primele 2 săptămâni de la iniţierea terapiei, cu ulterioară stabilizare în următoarele 4 săptămâni (când se ating concentraţii constante de PEG-IFN). Numărul de neutrofile revine la normal imediat după încetarea terapiei. Incidenţa reducerii dozei din cauza neutropeniei este de 18% PEG-IFN versus 8% în tratamentul cu IFN standard.

Tratamentul neutropeniei se poate face cu Filgastrim (Neopogen®), care stimulează granulopoeza prin stimularea producţiei de precursori medulari de granulocite (7).

Trombocitopenia (< 10^5/mm^3) se produce ca urmare a hipersplenismului care duce la sechestrare splenică şi poate necesita reducerea dozei de PEG-IFN (3% din cazuri). La apariţia ei mai contribuie şi producerea hepatică inadecvată de trombopoetină, citokină ce controlează maturarea megakariocitelor şi producerea de trombocite. Pentru corectarea trombocitopeniei, FDA-ul a aprobat folosirea unui factor de creştere a trombocitelor ce stimulează proliferarea celulelor stem, a precursorilor megacariocitari (Neumega®). Se administrează subcutanat 25-50 mg/kg/zi, determinând creşterea trombocitelor în 5-9 zile (8).

Anemia este prezentă la 50% dintre pacienţii trataţi, fiind cauzată de supresia medulară exercitată de IFN şi hemoliza produsă de Ribavirină. Se recomandă o atitudine liberală prin reducerea drastică a dozelor sau întreruperea prematură a terapiei, precum şi utilizarea în indicaţii specifice a factorilor de creştere. Pentru pacienţii cu HC < 8,5 g/dL se suprimă terapia până la revenirea valorii hemoglobinei (9,10).

Anemia indusă de PEG-IFN + Ribavirină este precoce, apărută în săptămânile 4-8 de terapie, determinând reducerea timpurie a dozelor. Orice reducere a dozei înainte de săptămâna 24, afectează dramatic eficienţa terapiei.

Combaterea anemiei se poate produce prin reducerea dozelor şi cu agenţi de stimulare ai eritropoezei (Eritropoetin beta - Neorecormon®). Beneficiile terapiei cu eritropoetină sunt: menţinerea dozei de ribavirină la nivelul ţintă; creşterea aderenţei terapiei de bază; creşterea valorilor Hb; îmbunătăţirea calităţii vieţii şi reducerea necesarului transfuzional şi numărului zilelor de spitalizare (11,12).

REACŢII ADVERSE TARDIVE

1) *Neuropsihiatrice* (13): ideaţii suicide/ homocide, depresie (29% din pacienţi), abuz/dependenţă de droguri, agresivitate. Aceste reacţii se produc prin depleţia periferică de triptofan (precursor al serotoninei), indusă de IFN - depleţie de serotonină + reducerea cantităţii de triptofan + creşterea catabolismului triptofanului. Alte efecte asupra SNC: anxietate, vertij, insomnie, labilitate emoţională, hipertonie, confuzie, psihoze, halucinaţii, parestezii, dezordini bipolare, manii, rar crize comiţiale.

Toţi pacienţii trebuie monitorizaţi pentru surprinderea semnelor în timpul terapiei şi încă 6 luni de la încetarea lui. Terapia trebuie întreruptă la cei cu depresie severă şi comportament agresiv, necesitând chiar asistenţă psihiatrică (14).

2) *Reacţiile gastrointestinale* (15) se concretizează în:

- greţuri, vărsături la 1/3 din pacienţi (de obicei moderate); dureri abdominale, rectoragii(ischemie colonică), afecţiuni parodontale;
- colită ulcerativă, pancreatită acută (rară, apare la 5 luni de la iniţierea terapiei şi dispare după încetarea acesteia);
- creşterea transaminazelor (asociată cu steatoza hepatică şi răspuns virusologic redus): creşterea moderată reflectă activitate virală la nonrespondenţi; creşteri semnificative se observă ca urmare a efectelor imunomuodulatorii ale IFN la pacienţii susceptibili;
- ascita/insuficienţa hepatică/exitus - pot apare la pacienţii cu boală hepatică decompensată ce nu tolerează IFN.

3) *Reacţii cardiovasculare (16)* sunt în general tardive, apărând după 4 săptămâni de la debutul terapiei.

Printre cele întâlnite în mod frecvent amintim: hipotensiune arterială tranzitorie la începerea tratamentului, aritmii de tip supraventricular, tulburări de conducere, HTA reversibilă după oprirea tratamentului, edeme periferice, palpitaţii, dureri anginoase. Dintre efectele secundare rare se citează: insuficienţă cardiacă congestivă, angină pectorală, aritmie, fibrilaţie atrială, pericardită, infarct miocardic. Dintre efectele cardiovasculare grave amintim: cardiomiopatiile (de obicei reversibile după oprirea tratamentului), diferite forme de cardiopatie ischemică, uneori moarte subită prin insuficienţă cardiacă acută şi/sau aritmii ventriculare.

Se recomandă o atenţie deosebită pacienţilor cu afecţiuni cardiace preexistente care primesc tratament cu interferon. Asocierea ribavirinei, prin anemia drog-indusă poate agrava suferinţa cardiacă.

4) *Reacţii pulmonare*: bronşiolită obliterantă şi pneumonie interstiţială (sunt de obicei reversibile); sarcoidoză pulmonară (rar întâlnită) este datorată efectelor imunomodulatorii ale IFN.

5) *Reacţii endocrine (17)*:

Disfuncţii tiroidiene (incidenţă 6% - hipertiroidie 1%, hipotiroidie 5%). Există factori predictivi pentru riscul dezvoltării unei disfuncţii tiroidiene la pacienţii cu HVC trataţi cu IFN: sexul feminin, vârsta > 60 ani, prezenţa anticorpilor antitiroidieni înaintea iniţierii terapiei şi originea asiatică. Disfuncţia tiroidiană poate persista mai mult timp la 2% dintre pacienţi, dintre care 50% necesită tratament medicamentos pe termen lung. Prezenţa anticorpilor antitiroidieni nu este factor predictiv pentru durata disfuncţiei tiroidiene. Terapia pentru HVC poate fi continuată la aceşti pacienţi deoarece afecţiunea tiroidiană răspunde bine la tratament şi este reversibilă în majoritatea cazurilor.

Diabet zaharat insulino-dependent. Terapia cu IFN poate duce la DZ cu apariţia de anticorpi anti-celulă pancreatică în timpul şi după tratamentul cu IFN (fără a se cunoaşte mecanismul patogenic).

6) *Reacţii oftalmologice :* se concretizează în hemoragii retiniene, pierderea vederii în culori, edem macular, edem papilar, nevrită optică, obstrucţii ale arterei/ venei retiniene care pot fi induse sau agravate de IFN. Aceste efecte apar după câteva luni de tratament, majoritatea nefiind asociate cu pierderea semnificativă a vederii. Cea mai gravă : retinopatia ischemică (2-8% din cazuri), este mai frecventă la pacienţii cu antecedente de HTA/DZ. Se impune monitorizare oftalmologică la toţi pacienţii cu tratament cu IFN. Se mai citează sarcoidoză oculară şi nevrită optică.

7) *Reacţii imunologice :* apar rar, fiind reprezentate de creşterea/apariţia titrului de autoanticorpi (>50%).

Apariţia de boli autoimune manifeste (1-2% din cazuri) : disfuncţiile autoimune clinic manifeste apar rar şi afectează doar un procent mic din pacienţi (17,18). Exemple : - disfuncţii tiroidiene : hipotiroidie (cel mai frecvent, boală Graves, tiroidita autoimună) ; - hepatită autoimună (prezenţa anticorpilor antinucleari pretratament creşte riscul dezvoltării hepatitei autoimune în cursul tratamentului, nefiind o contraindicaţie a terapiei) ; - sindroame lupus eritematos-like, anemie hemolitică mediată imun, exacerbarea leziunilor de psoriazis.

CONCLUZII

Tratamentul antiviral este frecvent grevat de apariţia unei palete largi de efecte adverse, de intensităţi şi durată variabile, majoritatea fiind atribuabile PEG-IFN-ului.

Obţinerea unui răspuns virusologic susţinut este dependentă de cele mai multe ori de folosirea pe toată durata terapiei a unor doze optime de antivirale. Apariţia efectelor adverse poate conduce la diminuarea dozelor de PEG-IFN sau Ribavirină şi uneori chiar la întreruperea tratamentului (~10% din cazuri).

Efectele adverse trebuie sa fie recunoscute, anticipate atât de către medicul curant cât şi de pacient şi trebuie corect monitorizate.

Pentru majoritatea reacţiilor adverse nu e necesară întreruperea terapiei sau scăderea dozelor, exceptând cele hematologice şi neuropsihice.

BIBLIOGRAFIE

1. *** WHO Fact sheet - http : //www.who.int/immunization/topics/ hepatitis_c/en/index.html
2. Fried MW, Hadziyannis SJ. Treatment of chronic hepatitis C infection with peginterferons plus ribavirin. *Semin Liver Dis* 2004 ; 24 Suppl 2 : 47-54.
3. Hashemi N, Rossi S, Navarro VJ, Herrine SK. Safety of peginterferon in the treatment of chronic hepatitis C. *Expert Opin Drug Saf* 2008 ; 7 (6) : 771-781.
4. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C : a randomised trial. *Lancet* 2001 ; 22 : 958-965.
5. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR et al. Peginterferon alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C : a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004 ; 140 (5) : 346-355.

6. Vigani AG. Adverse event management. *Brazilian J Infect Dis* 2007 ; 11 (5) Suppl 1 : 66-70.
7. Soza A, Everhart JE, Ghany MG et al. Neutropenia during combination therapy of interferon alfa and ribavirin for chronic hepatitis C. *Hepatol* 2002 ; 36 (5) : 1273-1279.
8. Sulkowski MS. Management of the hematologic complications of hepatitis C therapy. *Clin Liver Dis* 2005 ; 9 (4) : 601-616.
9. Sulkowski MS, Wasserman R, Brooks L et al. Changes in haemoglobin during interferon alpha-2b plus ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat* 2004 ; 11 (3) : 243-250.
10. De Franceschi L, Fattovich G, Turrini F et al. Hemolytic anemia induced by ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C virus infection : role of membrane oxidative damage. *Hepatol* 2000 ; 31 (4) : 997-1004.
11. Afdhal NH. Role of epoetin alfa in maintaining ribavirin dose. *Gastroenterol Clin N Am* 2004 ; 33 (1 Suppl) : S25-35.
12. Devine EB, Kowdley KV, Veenstra DL, Sullivan SD. Management strategies for ribavirin-induced hemolytic anemia in the treatment of hepatitis C : clinical and economic implication. *Value Health* 2001 ; 4 (5) : 376-384.
13. Raison CL, Demetrashvili M, Capuron L, Miller AH. Neuropsychiatric adverse effects of interferon-alpha : recognition and management. *CNS Drugs* 2005 ; 19 (2) : 105-123.
14. Aspinall RJ, Pockros PJ. The management of side-effects during therapy for hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther* 2004 ; 20 (9) : 917-929.
15. Fried MW. Side effects of therapy of hepatitis C and their management. *Hepatol* 2002 ; 36 (5 Suppl 1) : S237-44.
16. Teragawa H, Hondo T, Amano H, Hino F, Ohbayashi M. Adverse effects of interferon on the cardiovascular system in patients with chronic hepatitis C. *Jpn Heart J* 1996 ; 37 (6) : 905-915.
17. Maddrey WC. Safety of combination interferon alfa-2b/ribavirin therapy in chronic hepatitis C-relapsed and treatment-naďve patients. *Semin Liver Dis* 1999 ; 19 Suppl 1 : 67-75.
18. Russo MW, Fried MW. Side effects of therapy for chronic hepatitis C. *Gastroenterol* 2003 ; 124 (6) : 1711-1719.

NOUTĂŢI

ARTERIOPATIA OBLITERANTĂ ATEROSCLEROTICĂ SE ASOCIAZĂ CU CREŞTEREA RISCULUI DE OSTEOPOROZĂ ŞI FRACTURĂ DE ŞOLD LA BĂRBAŢII VÂRSTNICI

Arteriopatia obliterantă a membrelor inferioare (AOMI) şi osteoporoza sunt boli cronice, ale căror prevalenţă creşte în funcţie de vârstă şi disfuncţiile metabolice asociate. S-a efectuat un studiu de cohortă prospectiv care a implicat 6 centre din S.U.A., fiind urmăriţi 5781 bărbaţi, cu vârsta de peste 65 de ani. Arteriopatia obliterantă a fost definită în prezenţa unui indice gleznă-braţ <0,9. Evoluţia osteoporozei a fost urmărită prin osteodensitometrii seriate pe o perioadă de 4,6 ani şi prezenţa fracturilor a fost obiectivată prin radiografii standard. La începutul studiului, prevalenţa AOMI a fost de 6,2%, iar ulterior, rata medie anuală de demineralizare, măsurată la nivelul şoldului, a fost de - 0,66% la bărbaţii cu AOMI şi de - 0,34% la cei fără boală arterială (p <0,001). Procentul pacienţilor cu fractură de şold a fost de 12% în grupul cu AOMI faţă de 7,9% în grupul fără AOMI. Studii ulterioare vor preciza mecanismele fiziopatologice ce explică această asociere (Collins TC, Ewing SK et al. Peripheral arterial disease is associated with higher rates of hip bone loss and increased fracture risk in older men. *Circulation* 2009 ; 119 : 2305-2312).

Corina Dima-Cozma

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE ACTUALITĂŢI

PREMENSTRUAL DYSPHORIC DISORDER: NEUROENDOCRINE INTERFERENCES

Cătălina Poiană[1,2], Mădălina Muşat[1,2], Mara Carsote[1], Corina Chiriţă[2]
"C. Davila" University of Medicine and Pharmacy Bucureşti
School of Medicine
1. Endocrinology Department
2. "C.I. Parhon" National Institute of Endocrinology Bucureşti

PREMENSTRUAL DYSPHORIC DISORDER: NEUROENDOCRINE INTERFERENCES (Abstract): Premenstrual dysphoric disorder (PMDD) consists in severe cognitive and mood changes, more aggressive as seen in premenstrual syndrome (PMS). These two syndromes are situated at the border between gynecology and psychiatry but the link between the two domains remains the neuroendocrine underlying mechanisms. In present, there are some molecular systems certainly proved as being involved, like estrogens. The hormonal pattern consists not in different levels of the hormones but different response to normal hormonal levels. The cyclical biochemical triggers are related to neurotransmitters as serotonin, endorphin and gamma-amino butyric acid (GABA). The heritability of the syndrome is sustained by genetic polymorphism in ESR1 gene. Thus, the PMDD is the result of multiple disturbances regarding neuroendocrine systems. **Key words**: PREMENSTRUAL DYSPHORIC DISORDER, ESTROGEN RECEPTOR, SEROTONIN

PMDD is the most severe form of PMS. The PMS affects 50 up to 80% of women (1). The percent of PMDD varies according to the criteria but mainly it represents between a fifth and a tenth of all menstruating women (2,3). The major features refer to the cycling symptoms related to the luteal phase, meaning the period between ovulation and menstruation and a lack of accuses during the follicular phase. The clinical aspects are psychiatrically as anxiety, sadness, anger, panic attacks, irritability, personal conflicts, asthenia, lethargy, sleeping difficulties, sexual dysfunction, lack of concentration and changes in appetite. The organic symptoms refer to digestive accuses as diarrhea, abdominal metheorism, cardiac symptoms as palpitations, unspecific pains as cephalgia, myalgia, arthralgia, restless leg syndrome, genitor-urinary complains, acne, sore throat, weight gain as well as breast tension. The combination of minimum 5 symptoms for 7 days before menstrual (for at least 2 consecutive months of one year) is the diagnosis (4).

NEUROENDOCRINE PROFILE

The pathogenic model of the PMDD is a normal ovarian function with cyclical triggers having biochemical origin that comes from central nervous system or from target cells of the gonad hormones (5). Thus, serotonin system plays a central role while latest theories related to genetic polymorphism of estrogen receptors sustain the target theory. Many studies had considered the whole hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA) and ovarian axis but over the years, the true serum hormonal imbalance was not proved. Thus, the endocrinology moves to the level of intracrinology while referring to PMDD or PMS (tab. I).

TABLE I
Neuroendocrine molecules involved in PMDD mechanisms

Type of first messenger molecule	Hormones	Neurotransmitters
Molecule	Progesteron	Serotonin
	Estradiol	GABA
	Cortisol	Beta-Endorphin
	Leptin	Glutamate

Based on the fact that mood changes may be related to the cortisol levels (as seen in pseudoCushing syndrome with basal hypercorticism from depression or chronic alcoholism or as seen in depression accompanying Cushing syndrome with cortisol excess), early studies tried to find this kind of association in PMDD. But, there were no significant differences in post-dexamethasone cortisol between the follicular and luteal phase of the menstrual cycle in these women (6).

Other data regard the fact that progesterone, not estradiol, produces decreased HPA axis response to stress during the luteal phase in PMDD. Even these women had an abnormal response to progesterone, they did not manifest the abnormalities of the HPA axis characteristic of major depression. Remarkably, there is a low progesterone response but normal level as well as normal structure of progesterone. Even the symptoms are presented during the luteal phase, the total amount of progesterone is the same to symptoms-free women (7). It is possible that changes in PMDD women come from regulation of neurotransmitter receptors by steroid hormones as progesterone or its metabolite allopregnanolone (2).

The estrogen receptor is encoded by the gene ESR, for the alpha receptor (ESR1) as well as beta (ESR2). Recently, 4 genetic variants regarding ESR1 are proved to represent an increased risk for PMDD. The single nucleotide genetic polymorphism is located on the intron 4 of the ESR1. It might explain the individual differences related to a hereditary characteristic. No consistent associations were found for ESR2 (3,8).

The brain amine leptin is a metabolic regulator of the gonads. The radioimmunoassay serum levels are increased during the luteal phase, more pronounced in PMS related to control. In spite to connection to the reproductive axe, no relation was found between leptin and estradiol or progesterone levels themselves (9). On the contrary, there is still a study where positive correlations during the follicular and luteal phases and after GnRH analogues (as leuprolide, buserelin) induced hypoestrogenism were found. Moreover, by treating the PMS patients with tibolone, the relationship was lost, too, while improving the symptoms (10).

The most important neurotransmitters and their receptors are serotonin, GABA, endorphins, and glutamate. The serotonin precursors in the brain are modified during menstrual cycle in women with PMDD, as shown by the positron emission tomography. Some consider the serotonin system as the most important biochemical mechanism involved in PMDD pathogenesis. There may be a common pathway to mood and anxiety disorders. The reduction in brain areas of 5-hydroxi-triptamin leads to poor impulse control, irritability. The serotonin is connected with ovarian steroid estrogens in modulating the mood and cognition by the fact that estrogens induce changes in serotonin transmission and metabolism into the brain (11). In hypothalamus, estrogen induces a diurnal fluctuation in serotonin. The estrogens also influence the metabolism of metanephrines, dopamine and have noradrenergic agonistic effects, all related to the mood. Their total serum level is not useful in influencing the mood symptoms as depression because there is only a tissue modulation (12). The ovarian hormones are important by progesterone, too, because it causes an increase of serotonin turn over. In PMDD there is a recurrent cyclic dysfunction of serotonin metabolism. This consists in blunted growth hormone and cortisol response to tryptophan and delayed prolactine response to fenfluramine and buspirone (5). The medication related to serotonin is the most effective therapy in PMDD. So are serotonin reuptake inhibitors (SSRI) as sertraline, paroxetine, fluoxetin. It is proved that their intermittent (premenstrual) using is similar as their continuous administration (5). These drugs are also used in other psychiatrically disorders as depressive, obsessive-compulsive or panic disorders. Inducing the congenital malformations in women with reproductive age marks the safety profile, especially for paroxetine (13). Among the FDA approved medication, beside the three SSRI, there is the forth drug: a low-dose combination oral contraceptive (COC) with 20 μg of ethinyl estradiol and 3 mg of drospirenone. This has a unique profile among progestins because it has both antimineralocorticoid and antiandrogenic activities. Biochemical, drospirenone is related to the 17 alpha-spironolactone. There are a few major studies that proved its efficacy over the mood, behavior symptoms as well as water retention or food intake disturbances in PMDD (14,15). A recent review of the literature found that the actually rate of responders to SSRI (not just those who only improved the symptoms), is almost 40%. The same percentage is found for the COC mentioned before that is why additional alternative treatments or their combination might become useful (16). When second line therapy is ineffective it should be considered spironolactone, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, herbal or vitamin therapy. The therapy selection is based on individual patient symptoms, medical history and need for contraception (17). The neuro-hormonal background of different efficacy is still unclear.

The GABA system is a general inhibitor in the nervous system. The fast GABA-gated chloride - linked GABA receptors (GABA$_A$-R) are involved in a cross – talk to the ovarian steroid hormones. The expression of the á4 subunit of the GABA$_A$-R is regulated by progesterone and its active metabolite allopregnanolone. Increase in the á4 expression occurs post-partum and after the withdrawal of chronically elevated progesterone or allopregnanolone. This is correlated to increased anxiety (18). On the contrary, increased ă2 subunit expression is associated with helplessness and compensation to stress. It is seen in chronic administration of oral contraceptives. The rat models with PMDD indicate underlying changes to GABA$_A$-R function and expression, especially á4 subunit (18). Based on GABA effects, GABA modulators may be useful in PMDD (as benzodiazepines: alprazolam, buspirone) but in vitro studies proved that the pharmacodynamic model of PMDD have a reduced sensitivity to GABA-modulatory agents. The SSRI drugs also influence GABA by indirect actions over the GABA$_A$-R (increasing the levels of endogen modulators of the GABA$_A$-R and altering the GABA$_A$-R expression) (19). One of the GABA receptor modulators is allopregnanolone. The SSRI medication "fight" against apparently deficiency of allopregnanolone (which in fact is a matter of receptor modulation) by increasing its concentrations due to a direct effect on the enzyme 3α-hydroxysteroid oxidoreductase, one of the two enzymes involved in the conversion of progesterone to allopregnanolone (20). The correlation between GABA system and steroid hormones as progesterone is based on the theory of "neurosteroids", meaning neuroactive metabolites of the hormones with rapid actions at the nerve. The most important neurosteroids are allopregnanolone (3α-hydroxy-5α-pregnane-20-one) and pregnanolone (33α--hydroxy-5α--pregnane-20-one). The neurosteroids potentiate the GABA$_A$-R by higher hiperpolarization, similarly to barbiturates and benzodiazepines. The neurosteroids are produced in gonads, adrenals and brain. In fertile women, the allopregnanolone serum concentration increases during the luteal phase and it is correlated to progesterone level. In women with PMDD the stress- allopregnanolone axis is disrupted (21). There is also a decreased responsiveness to pregnanolone. These observations correlate the severity of the mood symptoms and neurosteroid levels in PMDD. Futhermore, the neurosteroids via GABA$_A$-R influence serotonergic system, neuropeptide systems, and hypothalamic-pituitary-adrenal axis.

The beta-endorphin influences the behavior and mood changes in the brain in correlation to melanocyte stimulating hormone and estrogen (22). Some observations were found related to melatonin and PMDD. For example, later basal morning melatonin offset during late luteal phase is associated with more depressed mood in PMDD. Longer melatonin duration in the mid-follicular duration predicts a greater mood improvement following wake therapy that some approved (23).

Recent studies suggest the role of glutamate in anxiety and depression accompanying the PMDD. The fluctuations of glutamate across the menstrual cycle in the medial prefrontal cortex of women who suffer from PMDD and healthy control subjects are proved by two single-voxel 3 Tesla proton magnetic resonance spectroscopy exams. Although PMDD patients have a similar decrease in glutamate during the luteal phase as the controls, the PMDD women undergo an increased behavioral sensitivity to phase-related alterations that contribute to the psychiatric symptoms (24).

CONCLUSION

The underlying cause of PMDD is complex and not fully understood. Generally, it is accepted that we do not have enough arguments for an ovarian imbalance, only for a cyclical dysfunction, caused by biochemical triggers like neurotransmitters. The most important are serotonin and GABA. The heritability of the syndrome is sustained by genetic polymorphism in ESR1 gene. Thus, the PMDD is the result of multiple disturbances regarding neuroendocrine systems.

REFERENCES

1. Rapkin A, Mikacich J. Premenstrual syndrome: gynaecology or psychiatry? *Reprod Med Rev* 2001; 9 (03): 223-239.
2. Pearlstein T, Steiner M. Premenstrual dysphoric disorder: burden of illness and treatment update. *J Psychiatry Neurosci* 2008; 33 (4): 291-301.
3. Yan J. Genes linked to mood symptoms of premenstrual dysphoric disorder. *Psychiatr News* 2007; 42 (16): 15.
4. *** American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. IVth ed. Washington DC, 2000.
5. Steiner M. Premenstrual syndrome and premenstrual dysphoric disorder: guidelines for management. *J Psychiatry Neurosci* 2000; 25 (5): 459-468.
6. Roy-Byrne PP, Rubinow DR, Gwirtsman H, Hoban MC, Grover GN. Cortisol response to dexamethasone in women with premenstrual syndrome. *Neuropsychobiol* 1986; 16 (2-3): 61-63.
7. Roca CA, Schmidt PJ, Altemus M et al. Differential menstrual cycle regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis in women with premenstrual syndrome and controls. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88 (7): 3057-3063.

8. Huo L, Straub RE, Roca C et al. Risk for premenstrual dysphoric disorder is associated with genetic variation in ESR1, the estrogen receptor alpha gene. *Biol Psychiatry* 2007 ; 62 (8) : 925-933.
9. Anim-Nyame N, Domoney C, Panay N, Jones J, Alaghband-Zadeh J, Studd JW. Plasma leptin concentrations are increased in women with premenstrual syndrome. *Hum Reprod* 2000 ; 15 (11) : 2329-2332.
10. Tommaselli GA, Di Carlo C, Bifulco G, Di Spiezio SA, Pellicano M, Nappi C. Serum leptin levels in patients with premenstrual syndrome treated with GnRH analogues alone and in association with tibolone. *Clin Endocrinol* 2003 ; 59 (6) : 716-722.
11. Amin Z, Canli T, Epperson CN. Effect of estrogen-serotonin interactions on mood and cognition. *Behav Cogn Neurosci Rev* 2005 ; 4 (1) : 43-58.
12. Young E, Korszun A. Psychoneuroendocrinology of depression. Hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *Psychiat Clin N Am* 1998 ; 21 (2) : 309-323.
13. Marks DM, Park MH, Ham BJ et al. Paroxetine : safety and tolerability issues. *Expert Opin Drug Saf* 2008 ; 7 (6) : 783-794.
14. Mishell DR, Jr. YAZ and the novel progestin drospirenone. *J Reprod Med* 2008 ; 53 (9 Suppl) : 721-728.
15. Rapkin AJ. YAZ in the treatment of premenstrual dysphoric disorder. *J Reprod Med* 2008 ; 53 (9 Suppl) : 729-741.
16. Halbreich U. Selective serotonin reuptake inhibitors and initial oral contraceptives for the treatment of PMDD : effective but not enough. *CNS Spectr* 2008 ; 13 (7) : 566-572.
17. Jarvis CI, Lynch AM, Morin AK. Management strategies for premenstrual syndrome/premenstrual dysphoric disorder. *Ann Pharmacother* 2008 ; 42 (7) : 967-978.
18. Sundstrom P, I, Smith S, Gulinello M. GABA receptors, progesterone and premenstrual dysphoric disorder. *Arch Womens Ment Health* 2003 ; 6 (1) : 23-41.
19. Matsubara M, Suzuki S, Miura K et al. Electrophysiologic analysis of antidepressant drug effects on the GABA(A) receptor complex based upon antagonist-induced encephalographic power spectrum changes. *Neuropsychobiol* 2000 ; 42 (3) : 149-157.
20. Rasgon N, Serra M, Biggio G et al. Neuroactive steroid-serotonergic interaction : responses to an intravenous L-tryptophan challenge in women with premenstrual syndrome. *Eur J Endocrinol* 2001 ; 145 (1) : 25-33.
21. Figueiredo HF, Dolgas CM, Herman JP. Stress activation of cortex and hippocampus is modulated by sex and stage of estrus. *Endocrinol* 2002 ; 143 (7) : 2534-2540.
22. Price WA, Giannini AJ. Antidepressant effects of estrogen. *J Clin Psychiatry* 1985 ; 46 (11), 506.
23. Parry BL, Meliska CJ, Martinez LF et al. Late, but not early, wake therapy reduces morning plasma melatonin : relationship to mood in Premenstrual Dysphoric Disorder. *Psychiatry Res* 2008 ; 161 (1) : 76-86.
24. Batra NA, Seres-Mailo J, Hanstock C et al. Proton magnetic resonance spectroscopy measurement of brain glutamate levels in premenstrual dysphoric disorder. *Biol Psychiatry* 2008 ; 63 (12) : 1178-1184.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE **ACTUALITĂŢI**

HIPERURICEMIA ŞI SINDROMUL METABOLIC

F. Mitu[1], Mihaela Veronica Drăgan[2]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Clinica a VI-a Medicală
Spitalul Clinic de Recuperare Iaşi
2. Clinica a VI-a Medicală

HYPERURICEMIA AND THE METABOLIC SYNDROME (Abstract): Uric acid is the final product of purine metabolism in human beings. Despite the fact that uric acid was first identified approximately 2 centuries ago, certain pathophysiologic aspects of hyperuricemia are still not clearly understood. For years, hyperuricemia has been identified with or thought to be the same as gout, but uric acid has now been identified as a marker for a number of metabolic and hemodynamic abnormalities.The prevalence of the metabolic syndrome is very high in hyperuricemic patients. Recent epidemiologic studies support the view that asymptomatic hyperuricemia in patients at low cardiovascular risk is likely to result from diminished renal uric acid clearance and to be benign in outcome. In contrast, hyperuricemia in patients at high cardiovascular risk may promote or reflect alternative or additional pathogenetic factors promoting inflammatory, ischaemic or oxidative stresses to the heart and vessels. This hypothesis warrants testing, particularly in carefully designed randomized controlled urate-lowering interventional trials. **Key words** : HYPERURICEMIA, GOUT, METABOLIC SYNDROME, CARDIOVASCULAR RISK

Valorile normale ale acidului uric în sânge sunt între 6,4-6,8 mg/dL, cu o limită superioară ce poate merge pînă la 7 mg/dL. Secreţia de acid uric pare a fi corelată cu concentraţia serică de acid uric, pentru că o mică creştere a concentraţiei serice determină o creştere marcată a excreţiei uraţilor.

Hiperuricemia poate apărea fie datorită unei slabe excreţii, fie a unei creşteri a producţiei sau a combinaţiei acestor două mecanisme.

Subexcreţia este cauza celor mai multe hiperuricemii. Implicarea rinichiului în metabolismul purinelor este destul de importantă, aşa cum am mai spus, aşa că o excreţie alterată a acidului uric poate apărea datorită scăderii filtrării glomerulare, scăderii secreţiei tubulare sau a creşterii reabsorbţiei tubulare.În timp ce filtrarea scăzută a uraţilor nu este o cauză primară de hiperuricemie, poate contibui în schimb la hiperuricemia din cadrul insuficienţei renale. Scăderea secreţiei tubulare a uraţilor apare la pacienţii cu acidoză (de ex. cetoacidoza diabetică, intoxicaţia etanolică sau cu salicilaţi, cetoza de foame). Acizii organici care se acumulează în aceste condiţii sunt în competiţie cu secreţia tubulară de uraţi. În sfârşit, reabsorbţia distală crescută de acid uric este mecanismul care se crede a fi responsabil în hiperuricemia datorată terapiei cu diuretice şi diabetului insipid.

Supraproducţia de acid uric apare doar la o minoritate de pacienţi cu hiperuricemie.Cauzele hiperuricemie prin creşterea producţiei de uraţi pot fi fie exogene (alimentaţie bogată în purine) sau endogene.

Un procent scăzut al pacienţilor cu supraproducţie au defecte enzimatice care sunt cauze ale hiperuricemiei. Degradarea crescută a purinelor poate rezulta din proliferarea rapidă celulară şi turnover (criza blaştilor din leucemie) sau din moartea celulară (rabdomioliză, terapie citotoxică).

Mecanismele combinate, adică subexcreţie cu supraproducţie, pot de asemenea să determine hiperuricemie. Cauza cea mai comună din acest grup este consumul de alcool, care determină liza crescută hepatică a ATP şi generarea de acizi organici care intră în competiţie cu secreţia tubulară de uraţi.

Sindromul metabolic descrie un grup de factori de risc modificabili ce apar la acelaşi individ şi se asociază cu un risc crescut de boală cardiovasculară şi diabet zaharat tip 2 (tab. I).

Valoarea clinică a conceptului de sindrom metabolic constă în faptul că acest diagnostic a fost asociat cu un risc cardiovascular crescut, mai ales la bărbaţii peste 45 de ani şi la femei peste 55 de ani şi a prezis evoluţia scăderii toleranţei la glucoză la diabet zaharat tip II. În ultimul an, un număr de studii populaţionale au confirmat abilitatea sindromului metabolic de a prezice boala coronară şi cerebrovasculară, chiar la pacienţii cu boli cardiovasculare aterosclerotice preexistente (1).

Astfel, se consideră că termenul de sindrom metabolic are o valoare clinică foarte crescută şi contribuie la conştientizarea populaţiei ca relaţia dintre obezitate, insulinorezistenţă şi diabet zaharat cu bolile cardiace este analogă cu cea dintre fumat şi cancerul bronho-pulmonar (2).

TABELUL I

Definiţia sindromului metabolic după criteriile OMS, a Federaţiei internaţionale de Diabet şi NCEP ATP III

Factori de risc	OMS	NCEP ATP III	FID
	DZ tip II sau STG saui IR plus cel putin înca 2 factori de risc	Oricare 3 sau mai mulţi factori de risc	CA crescută plus încă cel puţin 2 factori de risc
Obezitatea	Indice abdomino-fesier >0,90 la barbaţi şi >0,85 la femei şi/sau IMC>30 kg/m^2	CA> 102 cm la barbaţi sau > 88 cm la femei	CA crescută
Trigliceride	>150 mg/dL	>150 mg/dL sau tratament pentru nivele crescute	>150 mg sau tratament pentru nivele crescute
HDL-colesterol	<35 m/dL la barbati sau <39 mg/dL la femei	<40 mg/dL la barbati sau <50 mg/dL la femei sau tratament pentru nivele scăzute	<40 mg/dL la barbati sau <50 mg/dL la femei sau tratament pentru nivele scăzute.
Tensiunea arterială	>140/90 mm Hg	TAS>=130 mm Hg sau TAD>=85 mm Hg sau tratament pentru HTA	TAS>=130 mm Hg sau TAD >=85 sau tratament pentru HTA
Glicemie a jeun	STG, IR sau DZ tipII	>100mg/dL sau tratament pentru DZ tip II	>100 mg/dL sau tratament pentru DZ tip II

OMS - Organizaţia Mondială a Sănătăţii, NCEP ATP III - National Cholesterol Education Program Adult Treatment - Programul Naţional de Educare a Adultului cu privire la Colesterol, FID - Federaţia Internaţională de Diabet, STG - scăderea toleranţei la glucoză: glicemie a jeun între 100 şi 125 mg/dL, CA - circumferinţa abdominală

Concentraţia crescută de acid uric seric (hiperuricemia) a fost de mult recunoscută ca şi o condiţie relativ frecventă la pacienţii cu sindrom metabolic (1). La aceşti pacienţi acidul uric seric este cu 0,5-1,0 mg/dL mai mare comparativ cu cei care nu au acest sindrom (4,5,6). Acidul uric seric creşte o dată cu creşterea numărului factorilor de risc prezenţi din sindromul metabolic (3, 6,7). Într-un studiu populaţional realizat, acidul uric seric a crescut de la 4,9 mg/dL la indivizii fără nici o componentă a sindromului metabolic la 5,9 la pacienţii cu trei componente ale acestui sindrom (4). Acidul uric seric oricum nu a crescut mai mult la cei cu mai mult de trei componente.

Relaţia dintre acidul uric şi sindromul metabolic este ilustrată de asemenea şi prin faptul că prevalenţa sindromului metabolic indică o creştere gradată a acidului uric seric, adică prevalenţa sindromului metabolic a fost (după criteriile ATP III), între 18,9% pentru cei cu acid uric seric mai mic de 6 mg/dL şi 70,7% pentru cei cu uricemie mai mare de 10 mg/dL (8). În mod similar, prevalenţa sindromului metabolic a fost arătată a fi de două ori mai mare la pacienţii cu guta decat la pacienţii fără gută. (9). De asemenea, în toate studiile corelaţia cea mai mare, dintre componentele sindromului metabolic, a fost cu circumferinţa abdominală.

Diminuarea excreţiei de acid uric este raportată la pacienţii cu sindrom metabolic, şi pare să se datoreze reabsorbţiei crescute a sodiului în tubul contort proximal, cauzată de hiperinsulinemie (5,10,11). Excreţia scăzută de acid uric datorită reabsorbţiei crescute a sodiului a fost raportată şi în cazul obezităţii şi hipertensiunii, cele mai comune boli asociate cu sindromul metabolic (12).

Producţia crescută de acid uric, ca mecanism pentru hiperuricemie, a fost de asemenea sugerată. Consumul crescut de fructoza a fost sugerat ca factor de producţie crescută în sindromul metabolic (13). Fosforilarea fructozei în ficat determină scăderea ATP, reflectată în cele din urmă în sinteza crescută de acid uric. Al doilea mecanism care ar creşte sinteza de acid uric la pacienţii cu sindrom metabolic şi afectare organică, ar fi ischemia locală. Enzima xantin oxidoreductază este activă în două forme distincte, fiecare cu capacitatea de a sintetiza acidul uric. Xantin dehidrogenaza, are o afinitate mai mare pentru NAD$^+$ oxidată, comparată cu oxigenul ca acceptor de electroni. În conditii ischemice, degradarea ATP este crescută, ducând la sinteza crescută de acid uric şi suplimentar, xantin dehidrogenaza este convertită la xantin oxidază. Această formă de enzimă utilizează oxigenul molecular în locul NAD$^+$ ca acceptor de electroni, ducând la formarea de anion superoxid şi peroxid de hidrogen (radicali liberi). Astfel, ischemia este o cauză de sinteză crescută atât a radicalilor liberi, cât şi a acidului uric.

Contribuţia relativă a subexcreţiei sau a supraproducţiei de acid uric la hiperuricemie, la pacienţii cu sindrom metabolic rămâne să fie determinată, dar este ştiut că, în condiţii de ischemie, combinaţia dintre sinteza crescută de acid uric şi sinteza radicalilor liberi poate potenţa afectarea ţesuturilor cardiovasculare.

HIPERURICEMIA, GUTA ŞI BOALA CARDIOVASCULARĂ

Două studii efectuate au examinat relaţia dintre acidul uric seric şi boala cardiovasculară (14,15). Populaţiile incluse în ambele studii ar putea fi clasificate în populaţii cu risc scăzut, respectiv cu risc crescut pentru bolile cardiovasculare.

În populaţia generală şi la pacienţii cu risc scăzut, acidul uric seric a fost un predictor slab pentru morbiditatea şi mortalitatea cardiovasculară. În contrast, în grupele selectate de pacienţi cu risc crescut cardiovascular (pacienţi cu diabet zaharat tip II, insuficienta cardiacă congestivă, boală coronariană, toate studiile examinate au arătat o asociere independentă între acidul uric şi bolille cardiovasculare şi mortalitate.

Interesant, două studii prospective mari au raportat recent o asociere independenta între gută şi boală cardiovasculară şi mortalitate. Primul sudiu, bazat pe datele de la Multiple Risk Factor Intervention Trial, a raportat că guta s-a asociat cu un risc crescut de 26% de infarct miocardic acut (16). Al doilea studiu, a analizat datele de la Health Proffesionals Follow-up Study (51297 de bărbaţi urmăriţi timp de 12 ani) şi a fost primul studiu prospectiv care a făcut legătura dintre gută şi mortalitate de orice cauză, moarte prin boală cardiovasculară şi moarte subită (17). Nu a putut fi văzută o relaţie între gută şi boală cardiovasculară din aceste studii epidemiologice. În mod clar, discrepanţa aparentă dintre ce s-a găsit la cei cu risc scăzut cardiovascular şi cei cu risc crescut ridică întrebarea dacă hiperuricemia nu are semnificaţie diferită la o persoană în funcţie de risc. O creştere uşoară a acidului uric în sânge la pacienţii cu obezitate necomplicată, hipertensiune, dislipidemie, insulinorezistenţă poate reflecta o disfuncţie a rinichiului în prelucrarea sodiului şi a acidului uric şi nu ar trebui să îngrijoreze şi nici să fie o motivaţie pentru terapie antihiperuricemiantă la cei asimptomatici (5,10).

În contrast, creşterile acidului uric seric la pacienţii cu obezitate, hipertensiune sau diabet şi risc cardiovascular crescut (mai ales la cei cu condiţii sau evenimente ischemice) ar putea fi considerate ca un marker de inflamaţie, ischemie şi stress oxidativ în sistemul cardiovascular (18). Această ipoteză, sprijinită de rezultatele unor studii epidemiologice (cum ar fi cel Atherosclerosis Risk Communities), la cei cu risc scăzut şi la pacienţii cu eveniment ischemic acut, pacienţi cu risc crescut, ar necesita trialuri clinice şi experimentale (19,20). Ar fi necesar să se efectueze un trial randomizat, controlat, intervenţional, în care pacienţii hiperuricemici, atât cu risc scăzut, cât şi cei cu risc crescut cardiovascular să primească un inhibitor de xantin oxidază şi placebo.

CONCLUZII

Prevalenţa sindromului metabolic este foarte mare la pacienţii hiperuricemici. Studii epidemiologice recente sprijină ideea că hiperuricemia asimptomatică la pacienţii cu risc scăzut cardiovacular este cel mai probabil rezultată din scăderea clearance-ului de acid uric renal şi este în general benignă (21).

În contrast, hiperuricemia la pacienţi cu risc crescut cardiovascular poate potenţa sau reflecta inflamaţia, stressul oxidativ şi ischemia de la nivelul vaselor şi inimii, fiind necesare alte studii pentru a vedea dacă un eventual tratament de scădere a nivelului de acid uric aduce o modificare în acest sens.

BIBLIOGRAFIE

1. Sarafidis PA, Nilsson PM. The metabolic syndrome : a glance at its history. *J Hypertens* 2006 ; 24 : 621-626.
2. Johnson LW, Weinstock RS. The metabolic syndrome : concepts and controversy. *Mayo Clin Proc* 2006 ; 81 : 1615-1620.
3. Ozsahin AK, Gokcel A, Sezgin N, et al. Prevalence of the metabolic syndrome in a Turkish adult population. *Diabetes Nutr Metab* 2004 ; 17 : 230-234.

4. Puig JG, Martínez MA, Mora M, et al. Serum urate, metabolic syndrome and cardiovascular risk factors : a population-based study. *Nucleos Nucleot Nucl* 2007 (in press).
5. López-Suárez A, Elvira-González J, Bascuñana-Quirell A, et al. Serum urate levels and urinary uric acid excretion in subjects with metabolic syndrome. *Med Clin* (Barc) 2006 ; 126 : 321-324.
6. Hjortnaes J, Algra A, Olijhoek J, et al. Serum uric acid levels and risk for vascular diseases in patients with metabolic syndrome. *J Rheumatol* 2007 ; 34 : 1882-1887.
7. Ford ES, Cook S, Choi HK. Serum concentrations of uric acid and the metabolic syndrome among US children and adolescents. *Circulation* 2007 ; 115 : 2526-2532.
8. Choi HK, Ford ES. Prevalence of the metabolic syndrome in individuals with hyperuricemia. *Am J Med* 2007 ; 120 : 442-447.
9. Choi HK, Ford ES, Li C, Curhan G. Prevalence of the metabolic syndrome in patients with gout : the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arthritis Rheum* 2007 ; 57 : 109-115.
10. Strazzullo P, Barbato A, Galletti F, et al. Abnormalities of renal sodium handling in the metabolic syndrome : results of the Olivetti Heart Study. *J Hypertens* 2006 ; 24 : 1633-1639.
11. Puig JG, Ruilope LM. Uric acid as a cardiovascular risk factor in arterial hypertension. *J Hypertens* 1999 ; 17 : 869-872.
12. Strazzullo P, Puig JG. Uric acid and oxidative stress : relative impact on cardiovascular risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2007 ; 17 : 409-414.
13. Nakagawa T, Tuttle K, Short RA, Johnson RJ. Hypothesis : fructose-induced hyperuricemia as a causal mechanism for the epidemic of the metabolic syndrome. *Nat Clin Pract Nephrol* 2005 ; 1 : 80-86.
14. Baker JF, Krishnan E, Chen L, Schumacher HR. Serum uric acid and cardiovascular disease : recent developments, where do they leave us ? *Am J Med* 2005 ; 118 : 816-826.
15. Wannamethee SG. Serum uric acid and risk of coronary heart disease. *Curr Pharm Des* 2005 ; 11 : 4125-4132.
16. Krishnan E, Baker JF, Furst DE, Schumacher HR. Gout and the risk of acute myocardial infarction. *Arthritis Rheum* 2006 ; 54 : 2688-2696.
17. Choi HK, Curhan G. Independent impact of gout on mortality and risk for coronary heart disease. *Circulation* 2007 ; 116 : 894-900.
18. Ferroni P, Basili S, Paoletti V, Davi G. Endothelial dysfunction and oxidative stress in arterial hypertension. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2006 ; 16 : 222-233.
19. Moriarity JT, Folsom AR, Iribarren C, et al. Serum uric acid and risk of coronary heart disease : Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Ann Epidemiol* 2000 ; 10 : 136-143.
20. Weir CJ, Muir SW, Walters MR, Lees KR. Serum urate as an independent predictor of poor outcome and future vascular events after acute stroke. *Stroke* 2003 ; 34 : 1951-1956
21. Kurl S, Laukkanen JA, Niskanen L, et al. Metabolic syndrome and the risk of stroke in middle-aged men. *Stroke* 2006 ; 37 : 806-811.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

PARADOXUL OBEZITĂŢII - REALITATE SAU FICŢIUNE ?

Viviana Aursulesei, A. Cozma, M.D. Datcu
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
Clinica I Medicală Cardiologică

OBESITY PARADOX (Abstract): Obesity has reached global epidemic proportions and is associated with major cardiovascular diseases and reduced overall survival. This paper reviews the metabolic and vascular consequences of dysfunctional adipocytokines in obesity as well as the pathological effects on blood pressure, cardiovascular structure and function. Despite this adverse association, numerous studies have documented an obesity paradox in which overweight and obese population with established cardiovascular disease have a better prognosis. There are potential explanations offered by literature for these puzzling data. For obese hypertensive patients the paradox is possibly linked to the lower systemic vascular resistance and plasma renin activity. In heart failure the excess body weight may confer some protective effects on mortality, due to a more metabolic reserve, higher levels of arterial pressure compatible with higher doses of cardioprotective medications, and a specific neuroendocrine profile with lower levels of circulating natriuretic atrial peptides, attenuated sympathetic nervous system and renin-angiotensin responses. For coronary heart disease and peripheral arterial disease the mechanisms are still uncertain. There are discussed a lesser severity of coronary lesions and left ventricular dysfunction, or a reduced prevalence of moderate-severe chronic obstructive pulmonary disease in patients selected for surgery. On the other hand, the constellation of data which supports purposeful weight reduction in the prevention and treatment of cardiovascular diseases induces a controversial position regarding this new concept. **Key words**: OBESITY, CARDIOVASCULAR RISK, ADIPOCITOKINES, OBESITY PARADOX

Obezitatea reprezintă o provocare majoră pentru medic, pacient şi sistemul sanitar în egală măsură. La ora actuală, obezitatea este considerată o "epidemie globală a civilizaţiei" prin incidenţa crescută în majoritatea ţărilor dezvoltate şi în curs de dezvoltare. În Europa, studiile cele mai recente - EURALIM şi pan-EU - arată că 27% dintre bărbaţi şi 38% dintre femei sunt obezi, situaţie similară pentru România (1). La acest procent se adaugă dublarea/triplarea prevalenţei la copii comparativ cu decadele anterioare. Situaţia este prezentată în mod similar de către statisticile americane. Raportul NHANES aprecia în 2004 că 32,9% dintre adulţi erau obezi, comparativ cu anii '60 când rata afecţiunii era de aproximativ 11-16% (2).

Dincolo de aspectul cantitativ, obezitatea viscerală (obezitatea cu risc) are un impact major asupra morbidităţii şi mortalităţii cardiovasculare. Aspectul este sesizat de însuşi Hippocrate în afirmaţia "*moartea subită este mai frecventă la cei care sunt graşi nativi decât la cei slabi*" (Chadwick J. cit. de 3) iar la începutul secolului XXI nu s-a modificat "*trend*"-ul epidemiologic al consecinţelor afecţiunii. Astfel, evaluarea obezităţii abdominale rămâne o modalitate fidelă de calcul a mortalităţii cardiovasculare, iar asocierea cu afecţiunile cardiovasculare depăşeşte fumatul şi alcoolul.

Obezitatea reprezintă o maladie extrem de eterogenă sub aspectul morbidităţii şi mortalităţii cardiovasculare. Populaţia obeză considerată cu risc are o susceptibilitate genetică particulară. În esenţă este vorba despre două categorii de gene - gene rare care determină obezitate morbidă şi gene comune denumite de susceptibilitate (aproximativ 41) care controlează distribuţia ţesutului adipos, ratele metabolice, răspunsul metabolic la exerciţiu şi dietă, şi în acelaşi timp, permisivitatea la impactul factorilor de mediu (4,5). Astfel, obezul cu risc are o serie de caracteristici, reunite adesea în noţiunea de sindrom metabolic.

OBEZITATEA ŞI RISCUL CARDIOVASCULAR

Efectele cardio-metabolice nocive ale obezităţii sunt multiple, dependent de gradul şi durata obezităţii (6,7) (tab. I). Incidenţa hipertensiunii arteriale (HTA), inclusiv a formei rezistente la tratament este mult crescută. Profilul lipidic este modificat, prin creşterea fracţiunilor aterogene ale colesterolului şi a trigliceridelor, în paralel cu scăderea HDL-colesterol. Asocierea acestui status cardio-metabolic cu rezistenţa la insulină, indusă de obezitate, constituie sindromul metabolic, promotorul diabetului zaharat tip 2. În fine, statusul proinflamator şi protrombotic din obezitate contribuie la conturarea rolului de factor de risc independent pentru boala coronariană şi evenimente cardiovasculare majore, în particular la sexul feminin. Cu alte cuvinte, obezitatea influenţează statusul cardiovascular atât în mod direct dar şi prin factorii de risc asociaţi frecvent.

Consecinţele asupra cordului constau în creşterea debitului cardiac şi scăderea rezistenţei vasculare periferice. Rezultă creşterea presiunilor şi volumelor de umplere ventriculare, a *wall-stress*-ului, disfuncţie diastolică, promovarea de o manieră independentă a hipertrofiei ventriculare stângi (în special tipul excentric), creşterea incidenţei de aritmii complexe, în final dilatare de cavităţi şi disfuncţie sistolică. În mod particular, dilatarea atriului stâng favori-

TABELUL I

Efectele adverse ale obezităţii (adaptat după 6,7)

1.	Creşterea insulino-rezistenţei ✓ scăderea toleranţei la glucoză ✓ sindrom metabolic ✓ diabet zaharat tip 2
2.	Hipertensiune arterială
3.	Dislipidemie ✓ colesterol total şi trigliceride crescute ✓ LDL-colesterol crescut ✓ HDL-colesterol, apolipoproteina A scăzute
4.	Geometrie şi funcţie ventriculară modificate ✓ remodelare concentrică ✓ hipertrofie ventriculară stângă/dreaptă ✓ disfuncţie diastolică/sistolică ventriculară stângă/dreaptă
5.	Disfuncţie endotelială
6.	Status proinflamator şi protrombotic
7.	*Adipositas cordis* (cardiomiopatia obezului)
8.	Insuficienţă cardiacă
9.	Boală coronariană (inclusiv moarte subită)
10.	Fibrilaţie atrială
11.	Boală renală cronică
12.	Apneea obstructivă de somn

zează producerea fibrilaţiei atriale (5). Obezitatea, dar şi statusul de supraponderal, sunt predictori potenţi ai riscului de insuficienţă cardiacă în Framingham Heart Study (8). Astfel că după 20-25 de ani de evoluţie a obezităţii, afecţiunea are o incidenţă de 66%, respectiv 93% (9). Anomaliile structurale şi hemodinamice cardiace din obezitate sunt încadrate în noţiunea de *"cardiomiopatia obezului (adipositas cordis)"*. Termenul a fost utilizat pentru prima dată în 1818 de Cheyne (cit. de 5) care descrie magistral cordul obezului din punct de vedere structural, concomitent cu tipul de respiraţie Cheyne-Stokes. Interesant este modul de acţiune a ţesutului adipos care influenţează funcţia cordului, atât prin compresiune directă, cât şi prin secreţia locală de molecule active. Asociat se produce acumulare de lipide în celulele nonadipoase care conduce la apoptoză particulară, numită lipotoxicitate (5). Iniţial, procesul de acumulare lipidică este de tip metaplazie reversibilă. Ulterior, devine infiltrativ şi poate condiţiona producerea tulburărilor de conducere şi mai rar un *pattern* restrictiv. Studiile de rezonanţă magnetică nucleară şi tehnicile de spectroscopie au demonstrat că există o asociere directă între acumularea de lipide - indicele de masă corporală (IMC) - declinul funcţiei sistolice, iar conţinutul dinamic de trigliceride influenţează funcţia diastolică (10, 11). Modificările structurale asociate disfuncţiei sistemului nervos autonom din cardiomiopatia obezului explică şi incidenţa crescută a aritmiilor şi morţii subite. Obezul are frecvent Q-T prelungit şi postpotenţiale tardive, reducerea variabilităţii frecvenţei cardiace, mecanisme care explică riscul de aritmii maligne şi moarte subită prin cord. În Framingham Study de exemplu, rata de moarte subită cardiacă anuală este de 40 de ori mai mare comparativ cu populaţia nonobeză, procentul fiind proporţional cu gradul obezităţii (5). Un aspect extrem de important este şi intervenţia obezităţii asupra procesului de ateroscleroză/aterotromboză. Studiul postmortem PDAY (*Determinants of Atherosclerosis in Youth*) la persoane tinere obeze a arătat relaţia directă cu leziunile extinse de ateroscleroză la nivelul arterei coronare drepte şi aortei abdominale (12). Rezultate similare sunt aduse de studii prospective la adulţi care demonstrează relaţia între placa instabilă şi obezitatea viscerală, reducerea rezervei de flux coronarian şi distribuţia ţesutului adipos/insulinorezistenţa, ateroscleroza accelerată carotidiană, indicele de calciu coronarian/aortic şi obezitatea abominală la persoane de sex masculin etc. (13,14,15,16). Impactul obezităţii se extinde şi asupra prognosticului pacientului coronarian obez cu indicaţie de revascularizare. Astfel, obezitatea semnează riscul de mortalitate după by-pass coronarian şi este predictor important pentru dezvoltarea postoperatorie a fibrilaţiei atriale şi a insuficienţei renale (17, 18). Există şi semnale *vis-à-vis* de dezvoltarea, progresia stenozei aortice şi evoluţia nefavorabilă după bioprotezare (19).

O direcţie mult discutată actual în fiziopatologia obezităţii şi a complicaţiilor cardiovasculare este rolul de organ endocrin al ţesutului adipos (20). Adipocitele produc numeroase molecule biologic active numite adipocitokine: angiotensinogen, TNF-α, interleukina 6, adiponectina, leptina, resistina, inhibitorul activatorului de plasminogen (PAI-1) etc. Obezitatea este însoţită de modificări majore ale funcţiei secretorii a adipocitelor şi macrofagelor, ceea ce generează un status inflamator şi disfuncţie endotelială. La rândul său, disfuncţia ţesutului adipos generează obezitate, insulinorezistenţă, diabet zaharat, afectare vasculară. În obezitate, macrofagele sunt modificate atât din punct de vedere cantitativ cât şi calitativ. Cantitatea de macrofage se corelează cu indicatorii de insulinorezistenţă. Tipul de macrofage care creează disfuncţie adipoasă este M1 (secretă TNF-á şi interleukina 6). În plus, macrofagele interacţionează cu adipocitele şi generează disfuncţie adipocitară. Aceasta se caracterizează prin inhibarea adiponectinei (o adipocitokină benefică, cu rol antiinflamator, antiaterosclerotic, antiinsulinorezistenţă etc.) şi activarea adipocitokinelor care promovează stres vascular (fig. 1). Boala vasculară aterosclerotică este o rezultantă clinică importantă a disfuncţiei adipocitare. Creşterea tensiunii arteriale, anomaliile lipidice etc sunt strâns legate de obezitatea abdominală, dar pot fi controlate de reducerea greutăţii. Există multiple evidenţe asupra implicării unui sistem renină-angiotensină-aldosteron local în HTA din obezitate, care influenţează homeostazia hidro-salină şi tonusul vascular (21). Angiotensina II, la rândul său, poate afecta semnalizarea intracelulară a insulinei şi blochează expresia genei pentru adiponectină, de unde rezultă beneficiul utilizării inhibitorilor ACE. Profilul lipidic caracteristic obezităţii este consecinţa eliberării unei cantităţi crescute de acizi graşi liberi şi CETP (*cholesteryl ester transfer protein*) de către adipocitele disfuncţionale (20). Acizii graşi liberi alături de TNF-á joacă un rol esenţial şi în inducerea insulinorezistenţei. La aceasta se adaugă acţiunea adipocitokinelor asupra celulelor b pancreatice, care devin insuficiente funcţional, sunt supuse apoptozei, mecanisme ce generează diabetul zaharat tip 2. În ceea ce priveşte afectarea vasculară arterială adiponectina ar putea fi factorul cauzal. Nivelul scăzut este predictor independent pentru riscul de boli vasculare în studii clinice prospective, în special forma activă HMV (22,23). Studiile prospective atrag atenţia şi asupra intervenţiei proteinelor din sistemul fibrinolitic. PAI-1, un reglator central al fibrinolizei, secretat în exces de adipocitele viscerale, este asociat cu risc vascular crescut, atât prin facilitarea trombozei cât şi prin destabilizarea plăcii de aterom. În

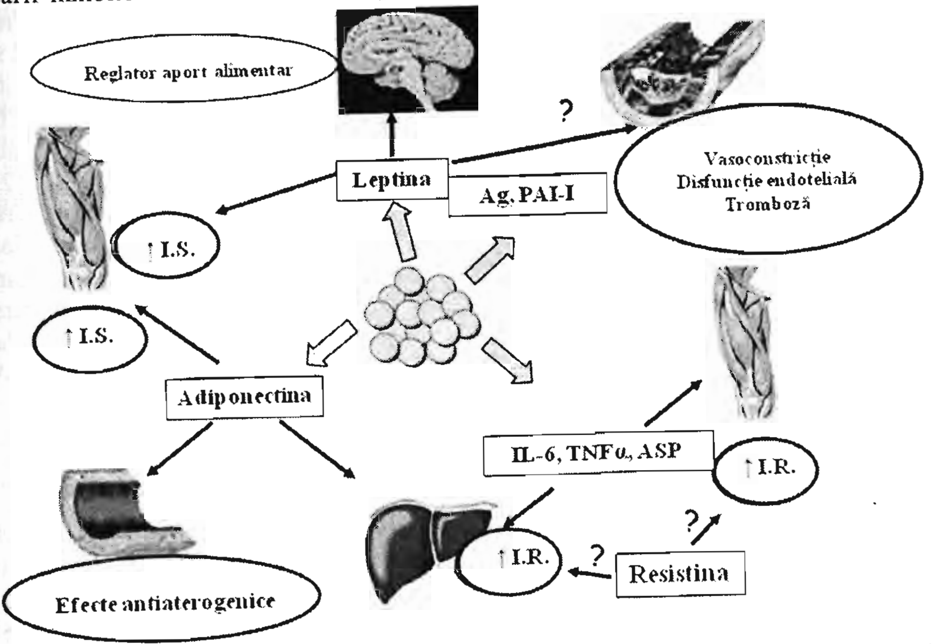


Fig. 1. Rolul adipocitokinelor în homeostazia metabolică şi vasculară (adaptat după Ronti T). Ag-angiotensina, ASP-proteina stimulantă pentru acilare, IL-6 – interlukina 6, I.S.-insulinosensibilitate, I.R.-insulinorezistenţă

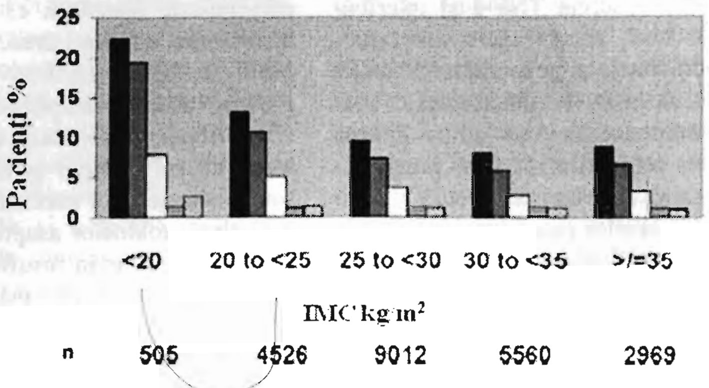


Fig. 2. Procentul pacienţilor la care apar primele evenimente cardiovasculare în funcţie de IMC (adaptat după Uretsky S (28))

fine, o adipocitokină cu rol particular în bolile cardiovasculare pare să fie leptina. Se discută intervenţia nivelului crescut, dar mai ales "rezistenţa la leptină" promovată de proteina C reactivă (24). Markerul ar avea valoare predictivă independentă asupra evenimentelor cardiovasculare (25). Leptina ar activa Na^+/K^+-ATP-aza renală şi sistemul nervos simpatic, reabsorbţia tubulară de Na^+ şi ar promova hiperinsulinismul.

Deşi există date clasice că obezitatea este un factor cheie pentru riscul de afectare cardiovasculară, literatura ultimilor ani susţine că pacientul obez cu boală cardiovasculară manifestă are un prognostic mai bun comparativ cu pacienţii nonobezi. Este ceea ce se numeşte *"paradoxul obezităţii"* (7,26).

PARADOXUL OBEZITĂŢII ÎN HTA

Obezitatea induce la pacientul hipertensiv hipertrofie ventriculară stângă, factor de risc cardiovascular independent clasic, cu consecinţe fiziopatologice şi clinice binecunoscute. Există cel puţin 5 studii în ultimii 20 de ani care accentuează faptul că populaţia obeză hipertensivă are un risc mai scăzut de mortalitate în ciuda controlului deficitar al valorilor tensionale comparativ cu populaţia nonobeză. Deşi incomplet explicată, relaţia ar putea fi datorată profilului hemodinamic caracterizat prin rezistenţă vasculară şi activitatea reninei plasmatice scăzute (6). Primele semnale le aduce Stamler, care în studiul său prospectiv pe 10000 de pacienţi, constată fenomenul curbei U în relaţia HTA-IMC (27). Semnificaţia este de mortalitate crescută pentru extremele de greutate, dar prognostic mai bun pentru obezul clasic. Datele sunt confirmate în studii ulterioare. Un trial prospectiv de referinţă este studiul lui Uretsky, efectuat pe 22576 de hipertensivi trataţi, cu boală coronariană documentată, la care mortalitatea a fost cu 30% mai scăzută, în ciuda controlului deficitar al tensiunii arteriale (28) (fig. 2).

Wassertheil (cit. de 6) face afirmaţii similare asupra riscului de accident vascular cerebral. Informaţii concordante apar şi la alte categorii de hipertensivi ca vârstnicii (acelaşi fenomen al curbei U) sau la dializaţi, care în mod paradoxal au HTA mai puţin severă (29).

PARADOXUL OBEZITĂŢII ÎN INSUFICIENŢA CARDIACĂ (IC)

În Framingham Heart Study, Kenchaiah (cit. de 6) demonstrează pe o populaţie de 5881 de subiecţi că pentru fiecare 1 kg/m² riscul de IC creşte cu 5% la bărbaţi şi 7% la femei. Cu alte cuvinte, obezitatea este factor de predicţie pentru dezvoltarea afecţiunii. Studii din aceeaşi perioadă atrag însă

atenţia asupra prognosticului favorabil la pacienţii obezi, indiferent de indicii utilizaţi pentru definirea obezităţii (30) (fig. 3). Lavie afirmă că o pierdere în greutate peste 6% este asociată cu afectarea supravieţuirii, după cum pentru fiecare 1% creştere procentuală a ţesutului adipos evenimentele clinice scad cu peste 13% (3). Acelaşi autor oferă date preliminare similare ale unui studiu încă nepublicat care include peste 1000 de pacienţi cu IC sistolică (31). Meta-analiza lui Oreopoulos care cuprinde 9 studii prospective pe 28000 de pacienţi urmăriţi în medie 2,7 ani afirmă că pacientul supraponderal şi obez cu IC are o reducere a incidenţei mortalităţii cardiovasculare de 19%, respectiv 40% (32). Analiza datelor din registrul naţional ADHERE de insuficienţă cardiacă acută (108927 pacienţi spitalizaţi) arată că pentru fiecare 5 unităţi de creştere a IMC riscul de mortalitate intraspitalicească scade cu 10% (33). Controversa actuală rămâne dacă paradoxul din IC este o asociere sau relaţie cauzală, deoarece se consideră că selecţia şi caracteristicile pacienţilor incluşi în studii ar putea afecta rezultatele reale. De exemplu, consumul maxim de oxigen la efort, care este un predictor potent de prognostic în IC avansată, este fals în obezitate, deoarece ţesutul adipos nu consumă oxigen. Cu alte cuvinte parametrii cardio-pulmonari trebuie ajustaţi în funcţie de greutate pentru a furniza informaţii corecte (3). Pe de altă parte, există argumente de ordin fiziopatologic în favoarea paradoxului. IC avansată este o stare catabolică, pe care obezul o poate compensa prin rezerva metabolică disponibilă. Citokinele şi profilul neuroendocrin al obezului pot fi de asemenea protective (32). Ţesutul adipos produce receptori solubili ai TNF-α care neutralizează efectele adverse ale citokinei. În plus, obezul cu IC acută şi cronică are niveluri mai scăzute de peptid natriuretic atrial, factor legat în mod categoric de prognostic. Ca şi în HTA, un factor protector este şi nivelul mai scăzut al activării simpatice şi al răspunsului sistemului renină-angiotensină-aldosteron. Obezul are în mod tipic valori tensionale mai mari, care permit doze crescute de medicaţie cardio-protectivă (32).

PARADOXUL OBEZITĂŢII ÎN BOALA CORONARIANĂ ŞI BOALA ARTERIALĂ PERIFERICĂ

Este demonstrat riscul independent al obezităţii pentru boala coronariană, indiferent de modul în care este definită (IMC rămâne un predictor independent pentru

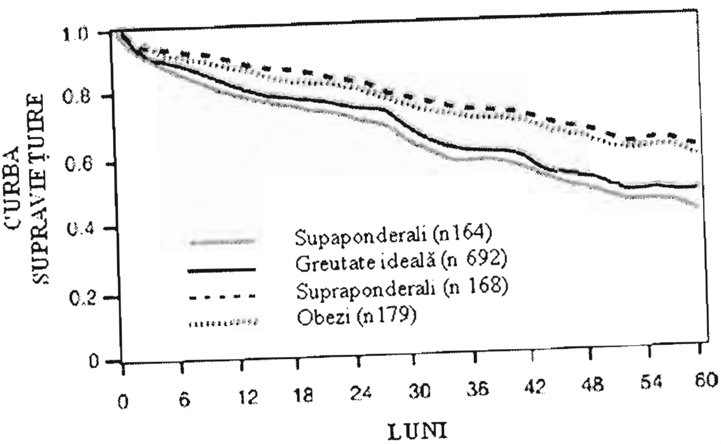


Fig. 3. Curbele de supravieţuire la 5 ani pentru 4 categorii de IMC la pacienţi cu IC moderată şi severă (adaptat după Horwich TB (30))

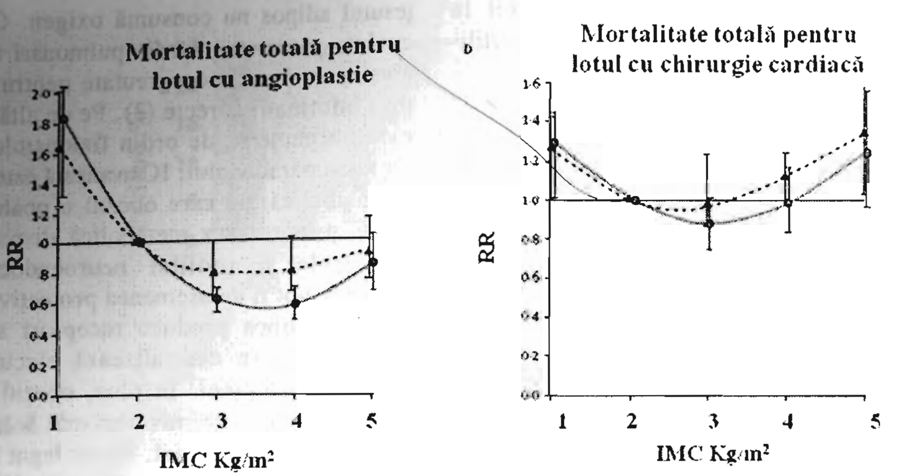


Fig. 4. Riscul relativ (RR) de mortalitate la pacienţi coronarieni revascularizaţi prin angioplastie (APTL) sau chirurgie cardiacă (adaptat după Romero-Corall A (34)). 1-subponderali; 2-normoponderali; 3-supraponderali; 4-obezi; 5-obezitate morbidă

prognostic). Studii recente comunică acelaşi paradox, inclusiv pentru prognosticul după revascularizaţie prin angioplastie sau chirurgie cardiacă. Metaanaliza lui Romero pe 250000 de pacienţi, cu urmărire medie de 3,8 ani, constată că riscul de mortalitate totală şi cardiovasculară este mai scăzut, relaţia fiind foarte clară pentru supraponderali şi cei cu obezitate uşoară (34). La un IMC = 35 kg/m^2 există însă un exces de mortalitate cardiovasculară, fără influenţă asupra mortalităţii totale (fig. 4). Paradoxul a fost notat şi în trialul BARI (*Bypass Angioplasty Revascularization Investigation*), fiecare unitate în plus pentru IMC fiind asociată cu o scădere de 5,5% a riscului de evenimente majore în cursul spitalizării (35). Studiul lui Reeves, contemporan cu trialul BARI, aduce rezultate similare şi afirmă un procent mai redus al complicaţiilor comune postoperatorii (36). Un alt studiu pe 6000 de pacienţi finalizat la Mayo Clinic, de această dată cu revascularizaţie prin angioplastie, demonstrează că obezii au mortalitate similară, chiar mai scăzută comparativ cu pacienţii normoponderali. Din nou riscul de complicaţii legate de procedură ar fi mai mare la normo- şi subponderali (37). Mecanismul responsabil de acest efect este neclar. Reeves oferă ca explicaţie posibilă faptul că, în general, obezii cu indicaţie de by-pass au boală coronariană şi disfuncţie ventriculară mai puţin severe. Un studiu recent oferă date legate de paradoxul obezităţii şi la pacienţii cu boală arterială periferică, selectaţi pentru revascularizare chirurgicală. Urmărirea timp de 4 ani a unei cohorte de 2392 de pacienţi cu risc crescut de mortalitate, a dus la concluzia unui paradox evident, explicat aproape în totalitate de relaţia inversă între IMC şi incidenţa bronhopneumopatiei obstructive cronice (38).

OBEZITATEA ŞI ALTE AFECŢIUNI CARDIOVASCULARE

Spre deosebire de afecţiunile discutate mai sus, există situaţii în care nu se poate vorbi despre paradoxul obezităţii în mod cert. De exemplu, se estimează că în 2050 prevalenţa fibrilaţiei atriale va creşte la obez de 2,5 ori, iar metaanalize recente stabilesc relaţia între IMC şi riscul de aproximativ 50% de a dezvolta tulburarea de ritm (39). Doar substudiile de chirurgie postcardiacă (44647 pacienţi) sugerează o incidenţă similară sau mai scăzută a tulburării de ritm la obezi. În mod similar, riscul de accident vascular cerebral ischemic şi hemoragic creşte pentru fiecare unitate de IMC cu 4%, respectiv 6% (40). Situaţia este identică pentru tulburările de ritm ventricular care, la obez, sunt complexe şi frecvente. Această tendinţă ar motiva şi rata anuală a morţii subite prin cord, de 40 de ori mai mare la obezi în Framingham Heart Study. În fine, creşterea volumului intravascular, staza limfatică, reducerea gradului de activitate fizică conduc frecvent la insuficienţă venoasă şi risc crescut de tromboembolism pulmonar venos.

CONCLUZII

Deşi obezitatea este un factor de risc independent pentru boli cardiovasculare, pacienţii obezi cu afecţiuni manifeste ar avea un prognostic mai bun, aşa-numitul "*paradox al obezităţii*". Pe de altă parte, există numeroase observaţii clinice care susţin beneficiul reducerii greutăţii corporale la aceste categorii de pacienţi, în mod direct sau indirect prin ameliorarea factorilor de risc. O explicaţie pentru paradoxul obezităţii ar fi designul neomogen al studiilor şi mai ales cuantificarea inadecvată a distribuţiei ţesutului adipos prin utilizarea IMC. Lipsa sa de specificitate ar putea diminua efectele adverse ale excesului ponderal deoarece indicele reflectă în egală măsură şi efectul protector al masei musculare asupra mortalităţii (41). În consecinţă, ar fi utilă reconsiderarea datelor privind paradoxul obezităţii în metaanalize noi ale studiilor anterioare, cât şi în studii prospective randomizate. Aspectul esenţial este cuantificarea excesului ponderal în mod omogen, prin indicatori comuni, multipli. De asemenea, este necesară urmărirea în cadrul aceluiaşi studiu a relaţiei între reducerea greutăţii şi mortalitatea/morbiditatea cardiovasculară. Până la confirmarea acestui concept, managementul adecvat al obezităţii cu risc, denumită şi colesterolul secolului XXI, reprezintă ţinta principală din punct de vedere epidemiologic. Revoluţia stilului de viaţă în prevenţia bolilor cardiovasculare rămâne cheia terapiei pentru contracararea incidenţei în creştere a obezităţii (42).

BIBLIOGRAFIE

1. Berghöfer A, Pischon T, Reinjold T, Apovian CA, Sharma AM, Willich SN. Obesity prevalence from a European perspective : a systematic review. *BMC Public Health* 2008 ; 8 : 200-208.
2. Wang YC, Colditz GA, Kuntz KM. Forecasting the obesity epidemic in the aging U.S. population. *Obesity* 2007 ; 15 (11) : 2855-2865.
3. Lavie CJ, Milani RV. Obesity and cardiovascular disease : the Hippocrates paradox ? *J Am Coll Cardiol* 2003 ; 42 (4) : 677-679.
4. Vohl MC, Sladek R, Robitaille J et al. A survey of genes differentially expressed in subcutaneous and visceral adipose tissue in men. *Obes Res* 2004 ; 12 : 1217-1222.
5. Poirier P, Giles TD, Bray GA et al. Obesity and cardiovascular disease : pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss : an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on obesity and heart disease from the obesity committee of the council on nutrition, physical activity and metabolism. *Circulation* 2006 ; 113 : 898-918.
6. Lavie CJ, Milani RV, Ventura HO. Obesity and cardiovascular disease. Risk factor, Paradox, and Impact of Weight Loss. *J Am Coll Cardiol* 2009 ; 53 (21) : 1925-1932.
7. Poirier P. Cardiologists and abdominal obesity : lost in translation ? *Heart* 2009 ; 95 : 1033-1035.
8. Alpert MA, Terry BE, Mulekar M et al. Cardiac morphology and left ventricular function in normotensive morbidly obese patients with and without congestive heart failure, and effect of weight loss. *Am J Cardiol* 1997 ; 80 : 736-740.

9. Kenchaiah S, Evans JC, Levy D et al. Obesity and the risk of heart failure. *N Engl J Med* 2002 ; 347 : 305-313.
10. McGavock JM, Victor RG, Unger RH. Adiposity of the heart, revisited. *Ann Intern Med* 2006 ; 144 : 517-524.
11. van der Meer RW, Hammer S, Smit JW et al. Short-term caloric restriction induces accumulation of myocardial triglycerides and decreases left ventricular diastolic function in healthy subjects. *Diabetes* 2007 ; 56 : 2849-2853.
12. Zieske AW, Malcom GT, Strong JP. Natural history and risk factors of atherosclerosis in children and youth : the PDAY study. *Pediatr Pathol Mol Med* 2002 ; 21 : 213-237.
13. Kortelainen ML, Sarkioja T. Visceral fat and coronary pathology in male adolescents. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001 ; 25 : 228-232.
14. Kondo I, Mizushige K, Hirao K et al. Ultrasonographic assessment of coronary flow reserve and abdominal fat in obesity. *Ultrasound Med Biol* 2001 ; 27 : 1199-1205.
15. Rosito GA, Massaro JM, Hoffmann U et al. Pericardial fat, visceral abdominal fat, cardiovascular disease risk factors, and vascular calcification in a community-based sample : the Framingham Heart Study. *Circulation* 2008 ; 117 : 605-613.
16. Lakka TA, Lakka HM, Salonen R et al. Abdominal obesity is associated with accelerated progression of carotid atherosclerosis in men. *Atheroscler* 2001 ; 154 : 497-504.
17. Echahidi N, Pibarot P, Despres JP et al. Metabolic syndrome increases operative mortality in patients undergoing coronary artery bypass grafting surgery. *J Am Coll Cardiol* 2007 ; 50 : 843-851.
18. Echahidi N, Mohty D, Pibarot P et al. Obesity and metabolic syndrome are independent risk factors for atrial fibrillation after coronary artery bypass graft surgery. *Circulation* 2007 ; 116 : I213-I219.
19. Pibarot P, Dumesnil JG. Prosthetic heart valves : selection of the optimal prosthesis and long-term management. *Circulation* 2009 ; 119 : 1034-1048.
20. Hajer GR, van Haeften TW, Visseren FLJ. Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes, and vascular diseases. *Eur Heart J* 2008 ; 29 : 2959-2971.
21. Ronti T, Lupattelli G, Mannarino E. The Endocrine Function of Adipose Tissue : An Update : Adipokines, Inflammation and Atherosclerosis. *Clin Endocrinol* 2006 ; 64 (4) : 355-365.
22. Wolk R, Berger P, Lennon RJ et al. Association between plasma adiponectin levels and unstable coronary syndromes. *Eur Heart J* 2007 ; 28 : 292-298.
23. Chen MP, Tsai JC, Chung FM et al. Hypoadiponectinemia is associated with ischemic cerebrovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005 ; 25 : 821-826.
24. Martin SS, Qasim A, Reilly MP. Leptin resistance. *J Am Coll Cardiol* 2008 ; 52 : 1201-1210.
25. Lavie CJ, Milani RV, Ventura HO. Untagling the heavy cardiovascular burden of obesity. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2008 ; 5 : 429-429.
26. Romero-Corral A, Montori VM, Somers VK et al. Association of bodyweight with total mortality and with cardiovascular events in coronary artery disease : a systematic review of cohort studies. *Lancet* 2006 ; 368 : 666-678.
27. Stamler R, Ford CE, Stamler J. Why do lean hypertensives have higher mortality rates than other hyper-tensives ? Findings of the Hypertension Detection and Follow-up Program. *Hypertens* 1991 ; 17 : 553-564.
28. Uretsky S, Messerli FH, Bangalore S et al. Obesity paradox in patients with hypertension and coronary artery disease. *Am J Med 2007*; 120 : 863-870.
29. Narkiewicz K. Obesity and hypertension - the issue is more complex than we thought. *Nephrol Dial Transplant* 2006 ; 21 : 264-267.
30. Horwich TB, Fonarow GC, Hamilton MA et al. The relationship between obesity and mortality in patients with heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2001 ; 38 : 789-795.
31. Lavie CJ, Milani RV, Artham SM et al. Does body composition impact survival in patients with advanced heart failure (abstract). *Circulation* 2007 ; 116 : II360.
32. Oreopoulos A, Padwal R, Kalantar-Zadeh K et al. Body mass index and mortality in heart failure : a meta-analysis. *Am Heart J* 2008 ; 156 : 13-22.

33. Fonarow GC, Srikanthan P, Costanzo MR et al. An obesity paradox in acute heart failure : analysis of body mass index and inhospital mortality for 108,927 patients in the acute decompensated heart failure national registry. *Am Heart J* 2007 ; 153 : 74-81.
34. Romero-Corral A, Montori VM, Somers VK et al. Association of bodyweight with total mortality and with cardiovascular events in coronary artery disease : a systematic review of cohort studies. *Lancet* 2006 ; 368 : 666-678.
35. Gurm HS, Whitlow PL, Kip KE. The impact of body mass index on short- and long-term outcomes in patients undergoing coronary revascularization : insights from the Bypass Angioplasty Revascularization Investigation (BARI). *J Am Coll Cardiol* 2002 ; 39 : 834-838.
36. Reeves BC, Ascione R, Chamberlain MH, Angelini GD. Effect of body mass index on early outcomes in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *J Am Coll Cardiol* 2003 ; 42 : 668-676
37. Powell BD, Lennon RJ, Lerman A et al. Association of body mass index with outcome after percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol* 2003 ; 91 : 472-476.
38. Galal W, van Gestel Y, Hoeks SE et al. The obesity paradox in patients with peripheral arterial disease : the influence of chronic obstructive pulmonary disease. *Chest* 2009 ; 134 : 925-930.
39. Wanahita N, Messerli FH, Bangalore S et al. Atrial fibrillation and obesity - results of a meta-analysis. *Am Heart J* 2008 ; 155 : 310-315.
40. Kurth T, Gazioano JM, Berger K et al. Body mass index and the risk of stroke in men. *Arch Intern Med* 2002 ; 162 : 2577-2562.
41. Romero-Corral A, Somers VK, Sierra-Johnson J et al. Diagnostic performance of body mass index to detect obesity in patients with coronary artery disease. *Eur Heart J* 2007 ; 28 : 2087-2093.
42. Prospective SC. Body-mass index and cause-specific mortality in 900.000 adults : collaborative analyses of 57 prospective studies. *Lancet* 2009 ; 373 : 1083-1096.

NOUTĂŢI

EFICIENŢA PROGRAMELOR DE TERAPIE OCUPAŢIONALĂ PENTRU PACIENŢII COPII CU PARALIZIE CEREBRALĂ

Scopul acestui studiu a fost să compare eficienţa programelor de terapie ocupaţională la domiciliu cu alte programe existente, variabilele urmărite fiind satisfacţia părinţilor copiilor care participau la program, gradul de participare, atingerea scopurilor propuse şi funcţionalitatea membrelor (în cazul copiilor care mergeau la şcoală). În studiu au fost incluşi 36 de copii cu paralizie cerebrală (vârsta medie : 7,7 ani ; de sex masculin : 69% ; evaluarea funcţiilor motorii : nivelul I, 47% ; nivelul II, 14% ; nivel III, 16% ; nivel IV, 7% ; nivelul V, 16% ; spasticitate, 85% ; dischinezie, 14% ; ataxie, 3%) care au fost aleator şi în mod egal atribuiţi grupurilor de terapie ocupaţională timp de patru sau sau opt săptămâni sau unui grup care făcea un alt tip de terapie. În cazul copiilor care au participat timp de opt săptămâni la programe de terapie ocupaţională s-au inregistrat diferenţe semnificative statistic în sens pozitiv în cazul tuturor variabilelor comparativ cu celălalt grup. Evaluările care au fost făcute în timpul terapiei nu au variat semnificativ între grupurile care făceau terapie patru săptămâni şi cele care făceau terapie opt săptămâni. În concluzie, pediatrii pot consilia familiile să adopte o astfel de terapie la domiciliu dovedindu-se că aceasta este eficientă dacă este aplicată de aproximativ 18 ori pe lună cu o durată a sedinţelor de aproximativ 16 minute (Novak I, Cusick A, Lannin N. Occupational therapy home programs for cerebral palsy : double-blind, randomized, controlled trial. *Pediatrics* 2009 ; 124 : 606-614).

Ecaterina Rusu

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE **ARTICOLE ORIGINALE**

EFICACITATEA COMPARATIVĂ A CATETERULUI DE IRIGAŢIE EXTERNĂ VERSUS CATETER DE 8 MM ÎN ABLAŢIA PRIN RADIOFRECVENŢĂ A FLUTTERULUI ATRIAL ISTMIC

Mihaela Grecu, Cătălina Arsenescu Georgescu
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
Institutul de Boli Cardiovasculare "Prof. Dr. George I.M. Georgescu" Iaşi

COMPARATIVE EFFICIENCY OF EXTERNALLY-IRRIGATED COOLED-TIP CATHETER *vs.* 8-MM-TIP CATHETERS IN RADIOFREQUENCY (RF) ABLATION OF COMMON ATRIAL FLUTTER (Abstract) : Cooled-tip and 8-mm-tip catheters have been found to be more effective than conventional 4-mm-tip catheters for radiofrequency (RF) ablation of common atrial flutter. The aim of this study was retrospective comparison between cooled-tip and and 8-mm-tip catheters in terms of efficacy and safety of RF ablation in atrial flutter. **Material and method** : Among 148 consecutive patients (pts) referred for common atrial flutter, cavotricuspid ablation was performed with an externally-irrigated cool tip catheter in 100 pts, and with an 8-mm-tip ablation catheter in 48 patients. RF current was applied for 60 seconds at powers of 50 W with the cooled-tip catheter, and in a temperature-controlled mode (65 degrees C/70 W) with the 8-mm-tip catheter, until bidirectional isthmus block was reached, or a total of 35 unsuccessful RF applications were performed. **Results** : A higher initial failure rate with 8-mm-tip catheters was significant, compared to the externally-irrigated catheter (18% vs 4% ; $p<0.01$). Significant differences were also found in some procedure parameters, such as the number of RF applications (26 ± 8 vs 35 ± 10 ; $p<0.04$), fluoroscopy time (11 ± 5 min vs 27 ± 10 min; $p<0.01$) and total procedure duration (95 ± 23 min vs 145 ± 35 min; $p<0.09$). No major complications occurred. In a mean follow-up of 30 ± 11 months atrial flutter recurred only in group treated with 8 mm catheter (10 patients among 48). **Conclusion** : In achieving cavotricuspid isthmus block, RF ablation performed through cooled-tip catheters is more efficient than application through 8-mm-tip catheters. **Key words** : CATHETER ABLATION, ATRIAL FLUTTER, IRRIGATED CATHETER

Ablaţia prin radiofrecvenţă (ARF) este tratamentul de rutină a flutterului atrial în majoritatea laboratoarelor de electrofiziologie. Loturi mari de pacienţi cu acest tip de aritmie au fost trataţi prin ablaţie istmică cu rezultate bune şi complicaţii puţine (1). Blocul istmic bidirecţional, obiectivul principal al ablaţiei istmice (2,3), poate fi dificil de obţinut la unii pacienţi. Au fost propuse diferite tipuri de catetere de ablaţie pentru îmbunătăţirea ratei de succes în ablaţia istmică. Cateterul de 8 mm sau cateterul cu irigaţie externă teoretic creează leziuni de suprafaţă şi profunzime mai mari decât cateterul convenţional de 4 mm. Superioritatea clinică a acestor catetere comparativ cu cateterul de 4 mm a fost confirmată în câteva studii (4,5,6,7). În aceste articole, cateterele de ablaţie utilizate au avut tehnologii diferite, de la irigaţie externă la irigaţie internă, la senzori unic sau dublu în cazul cateterului de 8 mm. Studiul de faţă, efectuat retrospectiv îşi propune să prezinte experienţa Institutului de Boli Cardiovasculare "Prof. Dr. George I. M. Georgescu" Iaşi în utilizarea cateterului de 8 mm cu senzor unic şi a cateterului de irigaţie externă în ablaţia flutterului atrial istmic.

MATERIALE ŞI METODĂ

Studiul analizează : 148 pacienţi consecutivi (68% bărbaţi cu vârsta medie 56 ± 11 ani) supuşi ablaţiei istmice de novo. Caracteristicile clinice ale pacienţilor sunt prezentate în tabelul I.

Flutterul atrial istmic a fost diagnosticat pe electrocardiograma de suprafaţă : pentru flutter atrial tip I prezenţa undelor de flutter 240-200 ms, negative în derivaţiile DII, DIII, aVF şi pozitive în derivaţia V1, iar pentru flutter atrial tip II prezenţa undelor de flutter 240-200 ms, pozitive în derivaţiile DII, DIII, aVF şi negative în derivaţia V1 (fig. 1). Confirmarea participării istmice la circuitul la macroreintrarea atrială s-a realizat utilizând criteriile clasice în vigoare (8) : tehnica de entrainment istmic numai în cazul flutterului atrial de tip II, cu secvenţă de depolarizare orară. Nu s-a realizat entrainmentul la nivel istmic pentru flutterul atrial tip I cu secvenţă de depolarizare antiorară.

S-au analizat retrospectiv rezultatele obţinute în termeni de succes procedural, durată totală a procedurii şi timp de expunere la scopie, prezenţa complicaţiilor. Pentru analiza statistică a datelor s-a utilizat programul SPSS-10.

Studiul electrofiziologic

Pregătirea preproceduralǎ a constat în informarea pacientului cu privire la scopul şi natura procedurii, cu obţinerea ulterioară a consimţământului semnat de pacient sau tutore. Medicaţia antiaritmică s-a întrerupt cu 72 ore înaintea procedurii (excepţie Amiodarona - 3 săptămâni). Pacienţii au fost studiaţi à jeun, după sedare lejeră cu Diazepam p.o., în seara dinaintea procedurii.

Intraprocedural s-a practicat cateterizarea cardiacă utilizând abordul femural- venos sau arterial retrograd, după anestezie locală cu Xilină 1% la nivelul pliului inghinal. Prin tehnica Seldinger s-au introdus două introductoare 7F destinate cateterului de mapping, respectiv cateterului de ablaţie. Pentru mapping s-a folosit în toate cazurile cateterul HALO duodecapolar (introdus cu porţiunea distală în sinusul coronar iar porţiunea medie şi proximală poziţionate de-a lungul istmului cavo-tricuspidian şi peretele lateral al atriului drept, anterior de crista terminalis). Cateterul HALO a permis observarea secvenţei de depolarizare în timpul flutterului atrial precum şi apariţia blocului istmic orar şi antiorar prin stimulare cu electrozii situaţi la nivelul ostiumului sinusului coronar, respectiv cu electrozii situaţi în porţiunea inferioară şi laterală a atriului drept. Intraprocedural s-a suplimentat sedarea, la nevoie, folosind Midazolam sau Diazepam 5-10 mg fracţionat.

TABELUL I
Caracteristici clinice ale pacienţilor supuşi ablaţiei istmice

	8 mm	**Irigaţie externă**
Vârsta (ani)	56±11	56±13
Sex (masculin)	32/48 (66,6%)	68/100 (68%)
Vechimea aritmiei (luni)	59	49
Cardiopatie structurală	39/48	78/100
Insuficienţă cardiacă	18/48	38/100
Diametru AS	51±4,5	50±5.3
DTDVS	55±7,3	56±8
DTSVS	38±4	39±6
Fracţie de ejecţie a VS	49±9.3	48±8,7

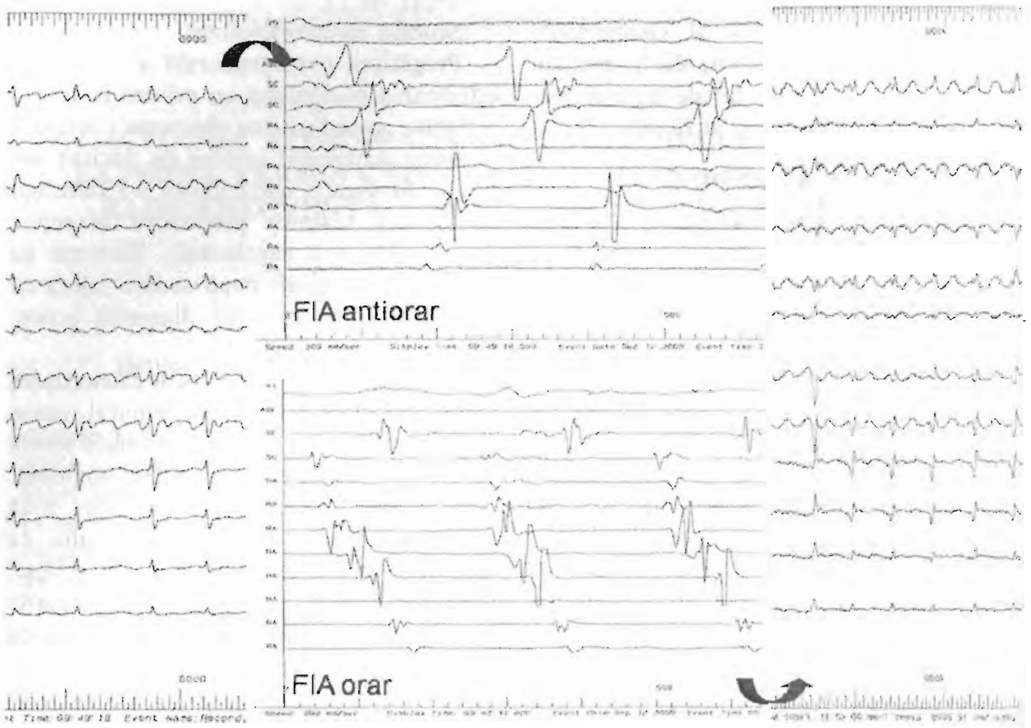


Fig. 1. În stânga electrocardiograma de suprafaţă în 12 derivaţii de flutter atrial comun istmic, cu unde F negative în derivaţiile inferioare (DII, DIII, aVF şi pozitive în V1), cu secvenţă de depolarizare atrială dreaptă antiorară (pe cateterul duodecapolar se observă primodepolarizarea atrială la nivelul peretelui superior al AD iar ultimodepolarizarea la nivelul sinusului coronarian distal. În dreapta electrocardiograma de suprafaţă în 12 derivaţii de flutter atrial comun istmic, cu unde F pozitive în derivaţiile inferioare (DII, DIII, aVF şi negative în V1), cu secvenţă de depolarizare atrială dreaptă orară (pe cateterul duodecapolar se observă primodepolarizarea atrială la nivelul ostiumului sinusului coronarian iar ultimodepolarizarea la nivelul peretelui superior al AD

Electrocardiograma de suprafaţă precum şi înregistrarea potenţialelor endocavitare bipolare au fost continuu monitorizate utilizând sistemul LabSystem Duo EP Laboratory - Bard Electrophysiology, 1998. Filtrele endocavitare au fost setate între 30-500 kHz, cu amplificare maximă a potenţialelor (0,1 mV/cm), viteza de derulare 100 mm/s în timpul mappingului, respectiv 200 mm/s pentru efectuarea măsurătorilor. Ca sursă de curent de radiofrecvenţă s-a utilizat generatorul Medtronic 500 KHz, la care parametrii maximali au fost setaţi în funcţie de cateterul de ablaţie utilizat:

- pentru cateterul Medtronic Marinr de 8 mm temperatura de control 60°C, 60W;
- pentru cateterul Medtronic Sprinklr cu irigaţie externă temperatura de control 50°C, 50 W (parametrul de monitorizare a aplicaţiei în acest caz este puterea, şi nu temperatura, ca în cazul cateterului de 8 mm). Ca soluţie infuzată s-a folosit ser fiziologic 9‰, uzual 500 ml, perfuzat la debite recomandate anterior (9): pentru mapping atrial s-a realizat la un debit de 20 mL/min iar aplicaţiile de radiofrecvenţă la un debit de 16,7 mL/min, debit maxim asigurat de o pompă de infuzie obişnuită Infusomat. Aplicaţiile au fost limitate la 60 secunde sau de creşterea impedanţei de aplicaţie la peste 130-150 ohmi. Manipularea cateterelor de diagnostic şi de ablaţie s-a realizat sub control fluoroscopic, utilizând echipamentul Siremobil Compact Siemens 2001, ce permite obţinerea imaginilor în poziţie posteroanterioară, oblic anterior stâng 45° şi oblic anterior drept 30°.

Ablaţia prin radiofrecvenţă

Ablaţia istmică s-a realizat prin aplicaţii de radiofrecvenţă punct cu punct dinspre versantul ventricular al inelului tricuspidian către vena cavă inferioară (valva lui Eustachio). Poziţionarea cateterului de ablaţie s-a realizat în poziţie oblic anterior stâng, ghidată anatomic (convenţional orele 6, 7 ale inelului tricuspidian), respectiv electrofiziologic realizându-se aplicaţii de 60 secunde pornind de la un potenţial ventricular mare şi un potenţial atrial mic, retrăgând cateterul în rotaţie antiorară cu obţinerea unui potenţial atrial mare şi un potenţial ventricular mic către abuşarea venei cave inferioare în atriul drept (fig. 2). În timpul aplicaţiilor s-au monitorizat temperatura de aplicaţie, puterea de aplicaţie (aplicaţiile la care nu s-au atins parametrii optimi au fost întrerupte) şi impedanţa circuitului (creşteri bruşte ale impedanţei cu peste 30 Ω sau la valori peste 130 Ω au obligat la întreruperea aplicaţiei cu spălarea coagulului de la electrodul distal). Procedurile au fost realizate de acelaşi medic operator împreună cu o echipă de 2 asistenţi medicali.

Obiectivele procedurii au fost întreruperea aritmiei, obţinerea blocului istmic bidirecţional după criteriile clasice în vi-

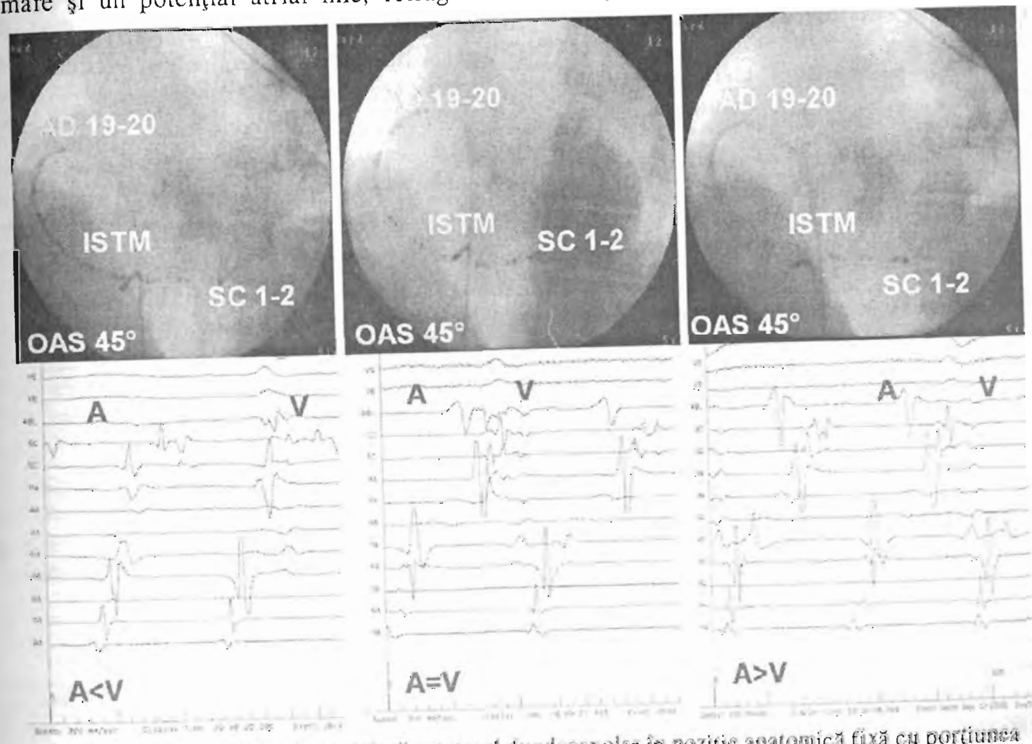


Fig. 2. Imaginile radiologice prezintă cateterul duodecapolar în poziţie anatomică fixă cu porţiunea distală în sinusul coronar şi cea proximală de-a lungul istmului cavotricuspidian. Cateterul de ablaţie este retras dinspre versantul ventricular al inelului tricuspidian către vena cavă inferioară. Mai jos reprezentate ultimele doua derivaţii precordiale V5, V6, canalul endocavitar de ablaţie şi cei zece poli ai cateterului duodecapolar dinspre distal către proximal. Pe canalul de ablaţie se observă modificarea aspectului punctului de ablaţie (a raportului A/V) în timpul efectuării liniei de ablaţie, corespunzătoare modificării poziţiei radiologice

goare (10) (fig. 3) şi noninductibilitatea aritmiei prin overdrive atrial scan şi ramp între 240-350 ms. Stimularea overdrive a fost practicată mai ales în cazurile în care secvenţa de depolarizare atrială în timpul stimulării pentru verificarea blocului istmic nu era certă (fig. 4). În cazul apariţiei fibrilaţiei atriale spontan prin iritaţie mecanică sau prin stimulare, s-a efectuat cardioversia electrică externă cu continuarea procedurii. Apariţia intraprocedurală a fost considerată factor predictiv de apariţie a fibrilaţiei atriale postablaţie. Procedura a fost întreruptă şi în cazul atingerii unui timp de lucru de 150 minute, a 30 minute de scopie sau a unui număr de 40 aplicaţii RF de 60 s.

Pentru verificarea efectivităţii procedurii s-a reluat studiul electrofiziologic, după 20 minute de aşteptare, redemonstrând obiectivele primare.

Urmărirea postprocedurală

Postprocedural pacienţii au fost monitorizaţi prin telemetrie 24 de ore, în repaus absolut, 6 ore după abordul venos. Durata spitalizării a fost în medie de 72 ore. La externare s-a întrerupt medicaţia antiaritmică după fiecare succes procedural şi s-a recomandat continuarea medicaţiei anticoagulante p.o. o lună şi controale de urmărire clinică şi electrocardiografică la 1 lună, 3 luni, 6 luni, 12 luni, ulterior anual. În cazul pacienţilor cu cardiopatie subiacentă cu factori predictivi pentru embolii periferice, cu fibrilaţie atrială asociată flutterului atrial, s-a preferat continuarea tratamentului anticoagulant oral pentru 3 luni.

Analiza statistică

Variabilele analizate au fost raportate ca medie ± deviaţie standard. Testul ANOVA a fost utilizat pentru compararea variabilelor în cele 3 grupuri de pacienţi. Rezultatul a fost considerat statistic semnificativ dacă $p < 0{,}05$.

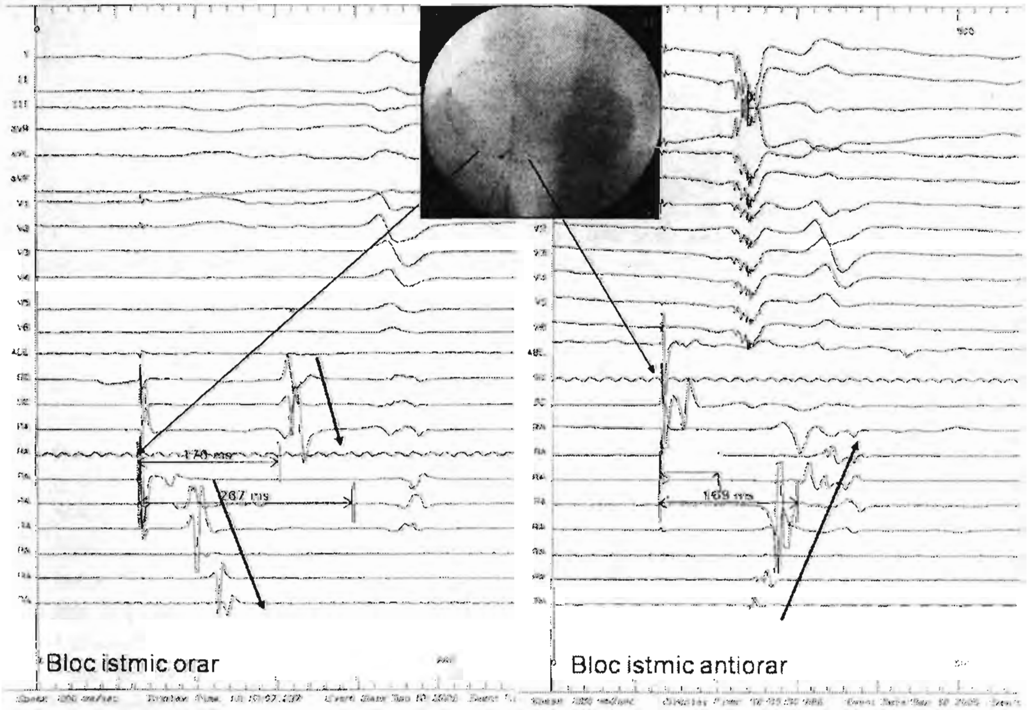


Fig. 3. Catetere poziţionate ca în figura 2. Demonstrarea blocului istmic bidirecţional prin stimulare de o parte (peretele lateral şi inferior al atriului drept) şi de cealaltă (ostiumul sinusului coronarian) a liniei de ablaţie. Secvenţa de depolarizare atrială frântă în dreptul liniei de ablaţie arată impermeabilitatea electrică a acesteia

REZULTATE

Pacienţii supuşi ARFA au fost analizaţi retrospectiv în 2 grupuri. Nu au existat diferenţe clinice semnificative între grupuri (tab. I). Având în vedere faptul că nu toţi pacienţii au prezentat aritmia la începutul procedurii, ablaţia în cazul pacienţilor în ritm sinusal s-a efectuat în stimulare atrială la LC 600 ms la nivelul ostiumului sinusului coronar. S-a obţinut diferenţă statistic semnificativă în atingerea obiectivului primar în cele 2 grupuri de pacienţi după cum urmează (tab. II): în grupul pacienţilor trataţi cu cateter de 8 mm succes primar de 82%, respectiv 96% în cazul folosirii cateterului de irigaţie externă. Cateterul de irigaţie externă a fost mai eficient în obţinerea blocului istmic bidirecţional, necesitând mai puţine aplicaţii de radiofrecvenţă şi un timp de expunere la scopie mai redus comparativ cu cateterul de 8 mm. La nici un pacient nu s-a observat obţinerea tranzitorie a blocului istmic în cazul utilizării irigaţiei externe, lucru frecvent întâlnit în cazul utilizării cateterelor convenţionale cu vârf de 4, 8 mm. A existat de asemenea o tendinţă la reducerea timpului procedural în cazul folosirii cateterului de irigaţie. Utilizarea cateterului de ablaţie cu irigaţie nu a necesitat întreruperea aplicaţiilor determinate de creşterea impedanţei, lucru care s-a întâmplat frecvent în cazul folosirii cateterului de 8 mm, asociat adesea cu formarea coagulilor care au condus la retragerea acestuia si spălarea electrodului distal. Fenomenul „pop" a fost observat numai în cazul folosirii cateterului de 8 mm. Un alt inconvenient al utilizării cateterului de 8 mm a fost dificultatea de poziţionare şi de stabilizare a cateterului în timpul aplicaţiilor

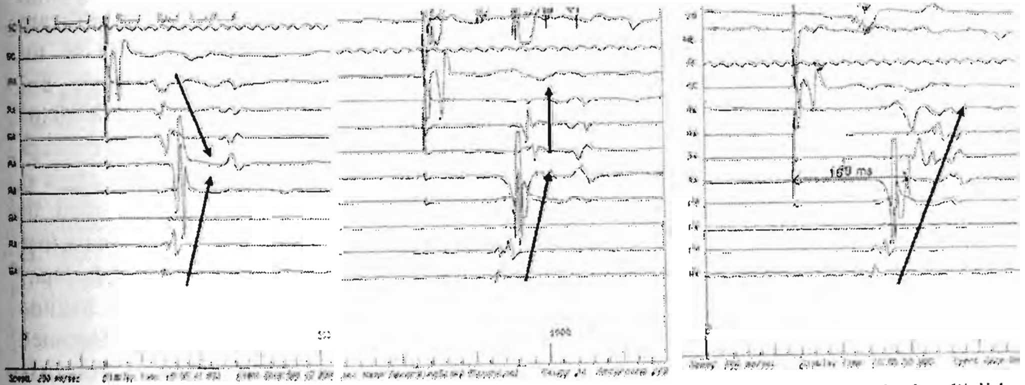


Fig. 4. Catetere poziţionate ca în figura 2. Aspectul depolarizării atriale drepte în timpul stimulării la nivelul sinusului coronar. De la stânga la dreapta : istm cavotricuspidian permeabil ; întârziere semnificativă a conducerii istmice, mimând blocul istmic orar ; bloc istmic orar

TABELUL II

Parametrii procedurali

Variabilă	Cateter 8 mm	Cateter irigaţie	P 8 mm/ir
Succes iniţial	39/48 82%	96/100 96%	0,01
Număr aplicaţii	35±10	26±8	0,04
Timp aplicaţie RF (sec.)	1332±669	785±470	0,06
Timp RX	27±10	11±5	0,05
Durata procedură (min.)	145±35	95±23	0,06
Urmărire (luni)	30±10	30±11	-
Recurenţe	10/48	0/100	-

datorită rigidităţii acestuia, aspect care s-a îmbunătăţit după apariţia cateterelor Medtronic Marinr flex.

Postprocedural doi pacienţi cu cardiomiopatie subiacentă severă (dilatativă şi hipertrofică obstructivă) au dezvoltat embolie de regularizare (accident vascular cerebral ischemic constituit la 48 ore de la procedura de ablaţie) în ciuda tratamentului anticoagulant corect pre- şi postprocedural corect. Pe o perioada de urmărire de 30 ± 11 luni, 136 pacienţi au fost asimptomatici. Nu au existat recurenţe în grupul pacienţilor trataţi cu cateter de irigaţie. 12 pacienţi care au prezentat recidive în celălalt grup au fost supuşi unei noi proceduri de ablaţie astfel încât în laboratorul nostru rata de succes final în ablaţia istmică este de 96% .

DISCUŢII

Acest studiu retrospectiv demonstrează că utilizarea cateterului de irigaţie externă are avantajul îmbunătăţirii ratei de succes la ablaţia *per primam* a istmului cavo-tricuspid utilizând timpi de aplicaţie RF şi de expunere la iradiere mult mai mici comparativ cu alte tipuri de catetere. Prin folosirea unui cateter tip de irigaţie la suprafaţa endocardului se poate elibera curent cu putere mare fără risc de formare a coagulului şi fără risc de creştere abruptă a impedanţei. Utilizând un cateter de irigaţie cu circuit deschis sau închis, prin electrod cu suprafaţă convenţională (diametru de 4 mm), se pot obţine leziuni cu suprafaţă şi adâncime mare, până la 10 mm (11).

Studii comparative *in vitro* au arătat diferenţele semnificative de dimensiune a leziunii de radiofrecvenţă nu numai între cateterul convenţional şi cateterul de irigaţie ci şi între tipuri de irigaţie (12,13,14): cu circuit deschis (irrigated tip), care pare mai eficient decât cateterul de irigaţie cooled tip cu circuit închis. În laboratorul nostru am ales să lucrăm cu cateterul de irigaţie cu circuit deschis Medtronic Sprinklr L datorită acestui motiv şi datorită unui raport excelent cost/ calitate. Cateterul de irigaţie externă nu a fost evaluat din punct de vedere al eficienţei în ţara noastră.

Un inconvenient al acestui tip de cateter este pierderea parametrului temperatură de monitorizare a aplicaţiei de radiofrecvenţă. Leziunea se monitorizează prin ajustarea puterii de aplicaţie. Temperatura la nivel subendocardic poate atinge valori mult mai mari faţă de temperatura măsurată de senzorul cateterului de irigaţie la interfaţa cu endocardul. Dacă temperatura atinge la nivel endocardic valori peste 100°C pot apare disrupţii ale endocardului sub forma unor cratere, însoţite de zgomot („pop") în acel moment, ce sunt trombogenice şi pot chiar determina ruperea unor structuri, mai ales la nivel atrial. Riscul de ruptură este mai mic la nivelul ventriculului şi utilizarea cateterului de irigaţie poate prezenta avantaje în tratarea tahicardiilor ventriculare prin reintrare. Cateterele de 8 mm utilizate în acest studiu au fost termocuplu cu un senzor Medtronic Marinr), respectiv doi senzori (Cordis Webster), în funcţie de adaptabilitatea la generatorul de radiofrecvenţă folosit. Cateterele cu doi senzori permit o monitorizare mai fidelă a temperaturii în timpul aplicaţiei (15), iar acest lucru nu a fost analizat în mod particular în studiul de faţă.

Deşi datele raportate până acum în literatură (16,17) arată o incidenţă a fenomenului „pop" mai mare în cazul folosirii cateterului de irigaţie, acest lucru nu a fost observat în laboratorul nostru. Se pare că utilizarea cateterului de irigaţie externă reduce fenomenul algic în timpul aplicaţiei, posibil datorită temperaturilor limitate de aplicaţie, deoarece pacienţii din acest grup au necesitat doze mai mici de antalgice în timpul procedurii. Nu s-au înregistrat cazuri de aderenţă a cateterului de zona de aplicaţie în cazul cateterului de irigaţie, aşa cum s-au înregistrat frecvent în cazul cateterelor de 8 mm.

Succesul procedural în ansamblu precum şi parametrii intraprocedurali (durata procedurii, număr de aplicaţii, durata de expunere la fluoroscopie) nu pot fi asimilate întru totul altor centre datorită diferenţei de tipuri de tahicardie abordate precum şi experienţei operatorului. În centrul nostru au predominat procedurile ablative ale flutterului atrial (45%) în comparaţie cu alte centre în care ablaţia flutterului atrial reprezintă 10-15% din totalul procedurilor curative.

Limitele studiului

O limitare a studiului de faţă este folosirea în ordine cronologică a cateterelor de 8 mm şi a celor cu irigaţie pe măsura achiziţionării cateterelor de către laboratorul nostru. Acest studiu prezintă experienţa de început a unui laborator tânăr, în plină formare, de aceea nu excludem posibilitatea îmbunătăţirii rezultatelor în cazul utilizării cateterului de irigare externă să fie şi creşterea experienţei operatorului. Lotul pacienţilor pentru cateterul de irigaţie este mult mai mare decât cel al pacienţilor pentru cateterul de 8 mm deoarece studiul a fost efectuat retrospectiv.

CONCLUZII

Cateterul de irigaţie externă are o eficacitate sporită în obţinerea rapidă a blocului istmic bidirecţional comparativ cu cateterul de 8 mm, fără costuri adiţionale majore.

MULŢUMIRI

Mulţumim tuturor medicilor cardiologi din Institutul de Boli Cardiovasculare Iaşi „Prof. Dr. George I. M. Georgescu" sau din alte centre care şi-au încredinţat pacienţii laboratorului nostru, precum şi echipei de asistenţi medicali : as. Gabriela Creangă, as. Liviu Stoica, as. Leonard Moldoveanu care au asigurat supravegherea pacienţilor şi buna desfăşurare a procedurii de ablaţie.

BIBLIOGRAFIE

1. García-Cosío F, López-Gil M, Arribas F, Goicolea A, Pastor A, Núñez A. Ablación de flúter auricular, resultados a largo plazo tras 8 años de experiencia. *Rev Esp Cardiol* 1998 ; 51 : 832-839.
2. Cosio FG, Lopez-Gil M, Goiocolea A et al. Radiofrequency ablation of the inferior vena cava tricuspid valve isthmus in common atrial flutter. *Am J Cardiol* 1993 ; 71 : 705–709.
3. Poty H, Saoudi N, Aziz AA et al. Radiofrequency catheter ablation of type I atrial flutter : prediction of late success by electrophysiological criteria. *Circulation* 1995 ; 92 : 1389–1392.
4. Jais P, Haissaguerre M, Shah DC et al. Successful irrigated-tip catheter ablation of atrial flutter resistant to conventional radiofrequency ablation. *Circulation* 1998 ; 98 : 835–838.
5. Jais P, Shah DC, Haissaguerre M et al. Prospective randomized comparison of irrigated-tip versus conventional-tip catheters for ablation of common flutter. *Circulation* 2000 ; 101 : 772–776.
6. Atiga WL, Worley SJ, Hummel J et al. Prospective randomized comparison of cooled radiofrequency versus standard radiofrequency energy for ablation of typical atrial flutter. *PACE* 2002 ; 25 : 1172–1178.
7. Schreieck J, Zrenner B, Kumpmann J et al. Prospective comparison of closed cooled-tip versus 8-mm-tip catheters for radiofrequency ablation of typical atrial flutter. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2002 ; 13 : 980–985.
8. Kalman JM, Olgin JE, Saxon LA et al. Activation and entrainment mapping defines the tricuspid annulus as the anterior barrier in typical atrial flutter. *Circulation* 1996 ; 94 : 398–406.
9. Scavee C, Georger F, Jamart J et al. Is a cooled tip catheter the solution for the ablation of the cavotricuspid isthmus ? *Pacing Clin Electrophysiol* 2003 ; 26 : 229–231.
10. Shah DC, Haissaguerre M, Takahashi A et al. Differential pacing for distinguishing block from persistent conduction through an ablation line. *Circulation* 2000 ; 102 : 1517–1522.
11. Haines DE, Verow AF. Observations on electrode-tissuee interface temperature-controlled radiofre-

quency catheter ablation of left ventricular porcine myocardium : Impact of ablation site, electrode size, and convective cooling. *Circulation* 1999 ; 99 : 319-325.

12. Thiagalingam A, Pouliopoulos J, Barry MA et al. Cooled needle catheter ablation creates deeper and wider lesions than irrigated tip catheter ablation. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2005 ; 16 : 508-515.
13. Petersen HH, Roman-Gonzalez J, Johnson SB et al. Mechanisms for enlarging lesion size during irrigated tip radiofrequency ablation : is there a virtual electrode effect? *J Interv Cardiol* 2004 ; 17 : 171-177.
14. Dorwarth U, Fiek M, Remp T et al. Radiofrequency catheter ablation : different cooled and noncooled electrode systems induce specific lesion geometries and adverse effects profiles. *Pacing Clin Electrophysiol* 2003 ; 26 : 1438-1445.
15. Scavee C, Jais P, Hsu LF, Sanders P et al. Prospective randomised comparison of irrigated-tip and large-tip catheter ablation of cavotricuspid isthmus-dependent atrial flutter. *Eur Heart J* 2004 ; 25 (11) : 963-969.
16. Eick OJ, Gerritse B, Schumacher B. Popping phenomena in temperature-controlled radiofrequency ablation : when and why do they occur? *Pacing Clin Electrophysiol* 2000 ; 23 : 253-258.
17. Watanabe I, Masaki R, Min N et al. Cooled-tip ablation results in increased radiofrequency power delivery and lesion size in the canine heart : importance of catheter tip temperature monitoring for prevention of popping and impedance rise. *J Interv Card Electrophysiol* 2002 ; 6 : 9-16.

NOUTĂŢI

AR PUTEA STRESUL OXIDATIV SĂ MODULEZE RĂSPUNSUL LA STEROIZI ÎN SINDROMUL NEFROTIC ?

Pentru evaluarea stresului oxidatic la copii nou diagnsoticaţi cu sindrom nefrotic primitiv (PSN) autorii au masurat seriat capacitatea totală antioxidantă a serului (TAC) şi malonildialdehida (MDA) la 33 de copii cu PSN şi la un lot de martori sănătoşi. Pacienii au fost clasificaţi în două grupe : unul cu PSN corticosensibil (n=26) şi unul cu PSN corticorezistent (n=7). Dintre pacienţii cu corticosensibilitate, 15 nu au avut recăderi, iar 11 copii au prezentat recăderi. În faza proteinurică, toţi pacieţii au avut valori semnificativ crescute ale MDA şi un nivel scăzut de TAC faţă de lotul martor. Aceste modificări au fost mai pregnante la pacienţii cu corticorezistenţă faţă de cei cu corticosensbilitate. În perioada de remisiune, dar încă sub terapie cortizonică, pacienţii au avut valori mari ale TAC şi niveluri similare ale MDA ca în faza proteinurică, dar nivelurile TAC si MDA au fost încă semnificativ diferite faţă de cele ale lotului martor. Îmbunătăţirea nivelurilor TAC şi MDA a fost întâlnită la pacienţi după întreruperea corticoterapiei, dar în continuare, TAC a avut niveluri mai scăzute la apcienţi decât la martori. Mai mult, TAC a fost mai mare la copii fără recăderi decât la cei cu recăderi. Prelucrarea statistică a permis o formularea unei predicţii a corticosensibilităţii iniţiale la niveluri serice ale TAC ≥0,73 mM/L (sensibilitate 89%, specificitate 86%), în timp ce niveluri ale TAC ≤1,14 mM/L după întreruperea corticoterapiei pot prognoza lipsa de recăderi (sensibilitate 91%, specificitate 80%). În concluzie, pe baza acestor rezultate, PSN poate fi considerat a fi asociat unui stres oxidativ chiar şi în perioada de remisiune. Acest stres poate modula răspunsul la corticosterioizi. Pentru viitor, însă, sunt necesare studii prospective folosind loturi mari de pacienţi pentru a valida aceste rezultate (Bakr A, Hassan SA, Shoker M, Zaki M, Hassan R. Oxidant stress in primary nephrotic syndrome : does it modulate the response to corticosteroids? *Pediatr Nephrol* 2009 ; 12 : 2375-2380).

Mihaela Munteanu

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi – 2009 – vol. 113, nr. 4

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE ARTICOLE ORIGINALE

RABDOMIOLIZA NON-TRAUMATICĂ ÎN PRACTICA MEDICALĂ

Cătălina Lionte, L. Şorodoc, O. Petriş, Victoriţa Şorodoc, Cristina Bologa, Gabriela Anton
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
Clinica Medicală a Spitalului Clinic de Urgenţe "Sf. Ioan" Iaşi

NON-TRAUMATIC RHABDOMYOLYSIS IN MEDICAL PRACTICE (Abstract) : Rhabdomyolysis, meaning "disintegration of striated muscle", is a potentially life-threatening syndrome resulting from release of muscular cell constituents into the circulation. The aim of this study is to determine frequence and causes of rhabomyolysis in internal medicine practice, as well as diagnostic and therapeutic discussions, based on a retrospective study in patients addressed to a medical clinic of an universitary emergency hospital. **Results** : The most common causes of rhabdomyolysis in general practice are represented by muscular trauma, muscle enzyme deficiencies, electrolyte abnormalities, infections, drugs, toxins and endocrine disorders. Frequent encountered clinical manifestations are weakness, myalgia and tea-colored urine, and the most sensitive laboratory finding of muscle injury is an elevated plasma creatine kinase level. The management of patients with rhabdomyolysis includes early vigorous hydration, together with specific measures (urine alkalinization, mannitol, hemodialysis). **Key words** : RHABDOMYOLYSIS, NON-TRAUMATIC

Termenul de rabdomioliză (*rabdo* = striat, *mio* = muşchi, *liză* = disoluţie), care înseamnă "disoluţia/dezintegrarea muşchilor striaţi", este un sindrom clinico-biologic cu potenţial letal, secundar extravazării conţinutului toxic intracelular din miocite în sistemul circulator (1). Unul dintre compuşii eliberaţi în circulaţie este mioglobina. Aceasta este slab legată de globuline şi doar mici cantităţi ajung în urină. Când sunt eliberate cantităţi masive de mioglobină, capacitatea de legare a proteinelor plasmatice este depăşită şi mioglobina este filtrată de glomeruli, ajunge în tubii renali unde produce obstrucţia acestora şi insuficienţă renală acută (IRA) (2). Rabdomioliza poate fi subclinică, evidenţiată doar prin creşteri ale creatinkinazei (CK), sau se poate manifesta ca o urgenţă medicală, cu colaps şi IRA acută pigmentară (3). Una din cauzele majore de rabdomioliză este sindromul de strivire, întâlnit la victimele accidentelor sau catastrofelor. Dintre cauzele de rabdomioliză non-traumatică sunt de amintit convulsiile, consumul de alcool sau compresiunea maselor musculare ca urmare a stărilor comatoase (2).

Prima raportare a unor cazuri de rabdomioliză este în Biblie (*Numeri*), unde se relatează despre israeliţi bolnavi sau decedaţi după ce au mâncat prepeliţă (care consumă seminţe de cucută miotoxice) (4). Istoria modernă consemnează primele cazuri de sindrom de strivire cu IRA în timpul cutremurului din Messina, în 1908 şi în literatura medicală germană, în timpul primului război mondial, la soldaţi care au făcut rabdomioliză după ce au rămas îngropaţi în tranşee. În literatura medicală engleză modernă, primii care au descris în detaliu IRA legată de sindromul de strivire au fost Bywaters şi Beall, care au prezentat asocierea dintre rabdomioliză şi IRA la patru victime ale bombardamentului asupra Londrei din 1940, din timpul bătăliei Angliei (5). Ulterior, a fost elucidat experimental rolul mioglobinei (6). În cursul anilor '70 a fost descrisă rabdomioliza de cauză nontraumatică (7). S-au evidenţiat numeroase cauze de rabdomioliză netraumatică şi mecanismele fiziopatologice implicate, de exemplu rabdomioliza secundară sindroamelor hipertermice induse de efort excesiv: "rabdomioliza gulerelor albe" (la soldaţi după marşuri forţate), hematuria după petreceri "rave" (consum de amfetamine şi efort excesiv) (8,9,10). Deşi rabdomioliza a fost considerată iniţial o sechelă post-traumatică, astăzi, rabdomioliza non-traumatică este de cinci ori mai frecventă în practica medicală decât cea traumatică (11).

Scopul studiului nostru a fost identificarea cauzelor şi frecvenţei rabdomiolizei în practica de medicină internă, precum şi consideraţii diagnostice şi terapeutice, prin realizarea unei analize retrospective asupra pacienţilor adresaţi unei clinici medicale dintr-un spital universitar de urgenţe.

MATERIAL ŞI METODĂ

Studiu clinic retrospectiv pe durata a 24 luni asupra pacienţilor adresaţi unei clinici medicale dintr-un spital universitar de urgenţe. Au fost incluşi în studiu 4027 pacienţi internaţi pentru patologie de medicină internă. Evaluarea acestora a inclus examen clinic complet care a urmărit prezenţa semnelor sugestive pentru dezvoltarea unei rabdomiolize, cum ar fi mialgii, slăbiciune musculară, edem al muşchilor (chiar în absenţa modificărilor de coloraţie tegumentară), oligoanurie şi/sau urinile colorate brun-roşcat, temperatura >38°C, comă prelungită şi la care s-a recoltat sânge în momentul internării pentru determinarea următorilor parametri: CK, TGO, TGP, LDH, uree, creatinină, acid uric, ionograma serică, rezerva alcalină. La pacienţii la care rabdomioliza a fost secundară reacţiilor adverse la medicamente s-a practicat biopsie musculară care a exclus alte cauze (ex. polimiozită). Au fost excluşi din studiu pacienţii cu diagnostic de infarct miocardic acut, intervenţii chirurgicale recente, politraumatisme, insuficienţă renală cronică.

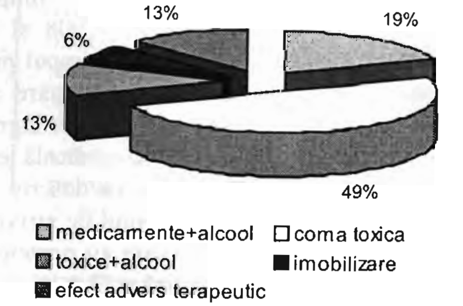


Fig. 1. Cauzele rabdomiolizei la lotul studiat

La pacienţii care au avut valori ale CK mai mari de 5 ori valoarea normală, deci au prezentat criteriul biologic de rabdomioliză, s-au urmărit modificările diurezei, evoluţia zilnică a nivelului CK şi instalarea în timp a complicaţiilor rabdomiolizei: tulburări electrolitice, hepatocitoliză, aritmii cardiace, IRA, coagulare intravasculară diseminată (CID).

REZULTATE

Din totalul de 4027 pacienţi internaţi în clinica medicală într-un interval de 24 luni, 72 au prezentat alterarea stării de conştienţă (1,78%) şi 16 pacienţi au prezentat semne de rabdomioliză, fiind înrolaţi în studiu. Prevalenţa pacienţilor cu rabdomioliză a fost de 0,39 % din populaţia internată în clinica medicală pe durata studiului. 9 cazuri au fost femei şi 7 cazuri bărbaţi, având vârsta medie de 44,43±17,02 ani. Cauzele de rabdomioliză sunt prezentate în fig. 1, iar patologia asociată în fig. 2.

13 din 16 pacienţi au prezentat intoxicaţii acute (81,25%), 4 dintre ei având intoxicaţii acute mixte. Medicamentele implicate au fost barbiturice, benzodiazepine, neuroleptice, antiepileptice, fenotiazine, antipsihotice, opiacee, statine şi antiinflamatoare nesteroidiene, iar toxicele implicate au fost alcool etilic, pesticide organofosforate, raticide şi solvenţi organici (cloroform, acetonă). Un pacient a fost spitalizat pentru un atac ischemic tranzitor şi a prezentat rabdomioliză în urma unui cumul de factori, între care consumul cronic de medicamente şi imobilizarea prelungită. Un caz a prezentat rabdomioliză indusă de atorvastatin 10 mg, iar un altul a fost secundar efortului fizic şi automedicaţiei cu antiinflamatorii nesteroidiene (meloxicam, ketorolac, ibuprofen).

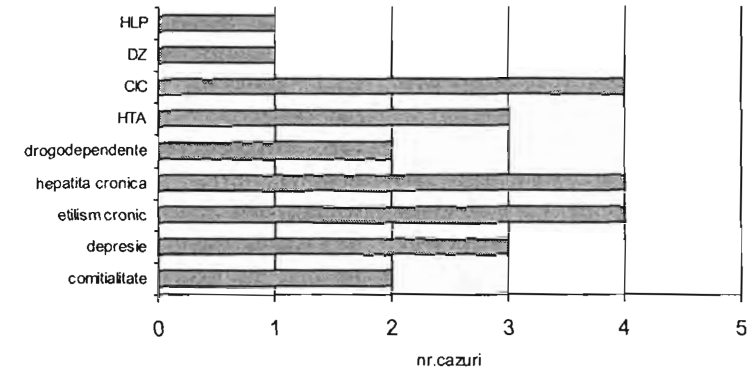


Fig. 2. Patologia asociată la pacienţii cu rabdomioliză

Dintre toţi pacienţii internaţi în clinica medicală cu alterarea stării de conştienţă, 12 pacienţi au prezentat rabdomioliză (16,7%). Decesul s-a produs la 2 dintre pacienţi (12,5%). Semnele generale (febră, deshidratare, hipotensiune) şi semnele urinare (urină hipercromă, anurie) au fost prezente la 11 din 16 pacienţi (68,75%). În ce priveşte semnele musculare specifice rabdomiolizei, acestea au fost prezente la 50% dintre cazuri şi au fost reprezentate de mialgii, rigiditate musculară, slăbiciune, contracturi musculare (tab. I).

CK a fost crescută din primele 24 de ore la toţi pacienţii din studiu, valorile maxime

TABELUL I

Caracteristici clinice şi date de laborator la lotul analizat

Caz	Scor Glasgow	Simptome/ semne musculare	Semne urinare	CK** (30-150 U/L)	Creatinina** (0,6-1,3 mg/dL)
1	12 (o)	-	-	1814±948,93	1±0,28
2	5 (c)	#	*	9201,5±10184,45	1,45±0,91
3	6 (c)	-	*	4816,5±5503,41	1,05±0,21
4	6 (c)	#	*	8312,5±10287,69	2,3±2,40
5	4 (c)	#	*, &	6819±8564,47	2,15±2,19
6	11 (s)	-	-	1580,5±1099,55	1,1±0,14
7	11 (s)	-	*	9726±12511,54	1,9±0,56
8	5 (c)	#	*	12667,5±14272,95	1,3±0,70
9	4 (c)	#	-	27839±12067,48	1,4±0,56
10	6 (c)	-	*, &	23988±32765,91	2,4±1,83
11	13	-	-	1766,5±448,79	0,85±0,21
12	13	-	-	1053,25±532,34	1,2±0,17
13	4(c)	#	*	4986,2±3055,65	0,8±0,14
14	11 (s)	-	*	1089±567,85	1±0,1
15	15	#	*	2571,33±2566,21	0,7±0,1
16	15	#	*	16560,66±23048,72	0,86±0,26

fiind de 23988 ± 32765,91 U/L. Creşterea acidului uric s-a înregistrat la 50% dintre pacienţi, la valori de 7,63 ± 0,38 mg/dL. Diselectrolitemiile au fost reprezentate de hiperkaliemie (43,75%), hiponatremie uşoară (31,25%) şi hipocalcemie (25%). 6 din 16 pacienţi (37,5%) au prezentat IRA şi 2 dintre aceştia au avut o evoluţie nefavorabilă, gravată de multiple complicaţii şi deces. Acidoza metabolică a complicat evoluţia în 10 cazuri (62,5%). Afectarea hepatică a fost prezentă la 4 pacienţi (25%) iar CID s-a înregistrat într-un caz care a decedat.

Alte complicaţii înregistrate au fost: aritmii (fibrilaţie atrială paroxistică, aritmie extrasistolică ventriculară) – 2 cazuri, bronhopneumonie/pneumonie – 3 cazuri şi pareză de nerv sciatic popliteu extern drept – 1 caz. 4 pacienţi au avut o evoluţie simplă, fără a se înregistra complicaţii. Durata medie de spitalizare a pacienţilor a fost de 9,4 ± 5,45 zile, iar decesele s-au produs în a treia zi, respectiv a patra zi de evoluţie.

DISCUŢII

Incidenţa rabdomiolizei în practica medicală este în creştere, datorită măririi frecvenţei afecţiunilor cauzatoare (în special intoxicaţii acute medicamentoase sau alcoolism). S-au îmbunătăţit şi mijloacele diagnostice, deoarece dozarea CK face parte din bilanţul de rutină al unui pacient care ajunge într-un serviciu de urgenţe. Astfel, în Statele Unite, cauzele majore de rabdomioliză la o populaţie urbană adresată unui departament de urgenţe au fost reprezentate de cocaină, efort şi imobilizare. Rabdomioliza este frecvent diagnosticată la pacienţi cu intoxicaţii acute, care sunt supuşi compresiunii musculare prelungite, la pacienţii vârstnici, după căderi sau atacuri cerebrale, sau la pacienţi cu convulsii de diverse cauze (12). Consumul de alcool este o altă cauză obişnuită de rabdomioliză (2,13). În multe cazuri de rabdomioliză non-traumatică indusă de alcool pacienţii aveau un istoric de intoxicaţie acută alcoolică sau comă alcoolică cu imobilizare (14). Aceşti pacienţi sunt de obicei diagnosticaţi şi trataţi în serviciile de urgenţe, datorită debutului rapid al durerilor musculare şi scăderii debitului urinar (15,16). Mai rar descrisă în literatură este rabdomioliza netraumatică asociată consumului cronic de alcool, situaţie care de multe ori scapă diagnosticului datorită debutului insidios, paucisimptomatic, absenţei comei, convulsiilor sau imobilizării prelungite în istoricul pacienţilor, precum şi lipsei durerilor musculare severe în tabloul clinic (14,17).

Studiul nostru a relevat o frecvenţă crescută a intoxicaţiilor acute (81,25%) şi a consumului de alcool (31,25%) în etiologia rabdomiolizei non-traumatice înregistrate la populaţia internată într-un serviciu de medicină internă, comparativ cu alte situaţii (imobilizare prelungită sau reacţii secundare medicamentoase etc.).

Patogenic, în rabdomioliză, eliberarea constituienţilor muşchiului necrotic (mioglobină, CK, LDH, uraţi, purine, K^+ şi $PO4^-$) determină alterarea concentraţiilor plasmatice ale unor compuşi anorganici şi organici, ceea ce induce complicaţii toxice, uneori cu risc vital (18). Pe de altă parte, pierderea integrităţii sarcolemei va determina pătrunderea de apă, Na^+ şi Ca^{++}din fluidul extracelular în citosol, cu acumularea unor cantităţi mari de fluide în membrele afectate (până la 10-14 litri), ceea ce determină şoc, hipernatremie şi degradarea funcţiei renale (fig. 3). Muşchii hipoxici eliberează acid lactic în circulaţie, a cărui eliminare este afectată dacă pacientul are hipovolemie (12). Acidoza va perturba numeroase funcţii metabolice şi va accentua hiperkaliemia. În fazele precoce ale rabdomiolizei, calciul se acumulează în muşchi, uneori cu producerea unei calcificări masive a muşchilor necrozaţi sau apariţia de osificări heterotopice (19). În prezenţa hiperkaliemiei, hipocalcemia severă poate explica apariţia aritmiilor, contracturilor musculare sau convulsiilor, care pot afecta suplimentar muşchii. pH-ul urinar scăzut şi acidoza intratubulară vor favoriza precipitarea intratubulară a mioglobinei şi acidului uric (rezultat din metabolizarea hepatică a nucleozidelor eliberate de miocitele dezintegrate) (2).

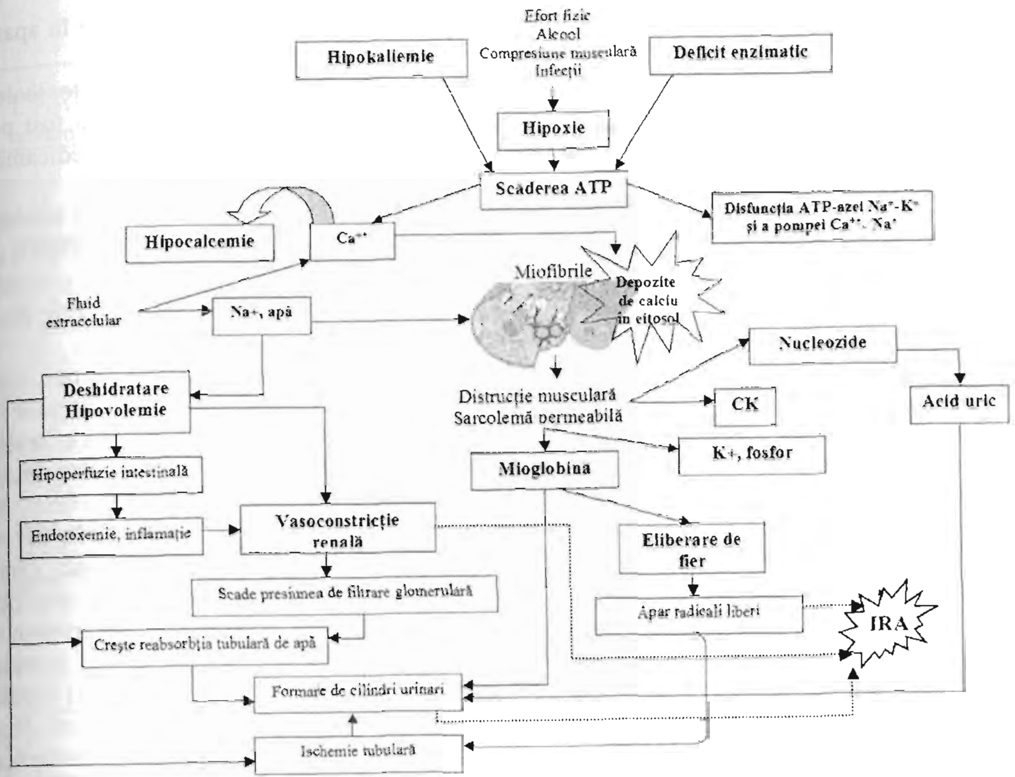


Fig. 3. Mecanisme patogenice în rabdomioliză

Mecanismele ce explică apariţia IRA în rabdomioliză sunt: vasoconstricţia renală, formarea cilindrilor intraluminali şi citotoxicitatea directă a hem-proteinelor (exacerbată în condiţii de acidurie şi hipovolemie) (20). Mioglobina filtrată precipită în tubii renali, apoi este degradată cu eliberare de hem (ce iniţiază peroxidare lipidică şi injuria renală) şi eliberare de fier, ce catalizează producţia de radicali liberi de oxigen şi accentuează leziunile ischemice (3,21).

Diagnosticul de rabdomioliză este sugerat de triada: cilindri granuloşi pigmentari în urină, coloraţie roşie/brună a urinei, creşteri marcate ale CK. Tabloul clinic constă în manifestări locale (durere, sensibilitate, tumefiere, slăbiciune, contracturi musculare şi echimoze) şi manifestări sistemice (urină hipercromă, febră, indispoziţie, greţuri sau vărsături, tahicardie, confuzie, agitaţie, delir, anurie) (22). Grupele musculare cel mai frecvent afectate sunt: muşchii gambei (confuzie cu tromboza venoasă profundă) şi muşchii regiunii lombare (diagnostic diferenţial cu colica renală). Tabloul clinic clasic este întâlnit la sub 10% dintre pacienţi. Afectarea muşchilor toracici determină confuzie cu angina pectorală (23). Peste 50% dintre pacienţi pot să nu prezinte acuze musculare (12).

În studiul nostru, 50% dintre pacienţi au prezentat semne musculare iar 61,75% au avut prezente şi semnele urinare sugestive pentru rabdomioliză. Manifestările sistemice au lipsit la 30% dintre pacienţi, iar 10% dintre ei au avut prezente doar criteriile paraclinice de rabdomioliză, în prezenţa contextului etiologic sugestiv, fără un tablou clinic evident.

Deşi tabloul clinic şi anamneza pot fi sugestive, diagnosticul de certitudine al rabdomiolizei este dat de explorările de laborator (enzimele musculare). Mioglobina creşte prima, dispare rapid (1-6 ore), iar mioglobinuria vizibilă (urină hem-pozitivă fără hematurie) apare atunci când este distrus > 100 g muşchi. CK are sensibilitate diagnostică de 100%. Valori > 1,000 U/L, cu predominenţa fracţiunii MM, în absenţa infarctului miocardic/cerebral semnifică o distrucţie musculară importantă. Valoarea maximă este atinsă la 24-48 ore, iar persistenţa/creşterea CK confirmă continuarea miocitolizei, posibil IRA. Valoarea CK nu este predictivă pentru IRA, dar valori > 16.000 sugerează un risc înalt de apariţie al IRA (24).

În studiul nostru, pacienţii care au dezvoltat IRA, chiar şi forme minore, au avut valori ale CK peste 12800 U/L.

Alte explorări evidenţiază hiperkaliemie, hipocalcemie, hiperfosfatemie, hiperuricemie, alături de creşteri ale altor enzime musculare, cum sunt: LDH, aldolaza, aminotransferazele şi anhidraza carbonică III. Atât IRA cât şi eliberarea crescută de creatinină din muşchii scheletici determină creşterea concentraţiei de uree şi creatinină cu scăderea raportului uree/creatinină serică de la 10 : 1 la 6 : 1 sau mai puţin (25).

În studiul nostru am evidenţiat creşteri ale ureei, creatininei, acidului uric, prezenţa acidozei metabolice la pacienţii care au dezvoltat IRA, iar diselectrolitemiile frecvent înregistrate au fost reprezentate de hiperkaliemie şi hipocalcemie care au răspuns la tratament conservator, fără a se impune măsuri speciale de tipul hemodializei.

Parametrii coagulării evidenţiază CID asociată rabdomiolizei iar examenele toxicologice vor evidenţia medicamentele sau toxicele suspectate a fi implicate în apariţia rabdomiolizei (26).

În studiul nostru, examenul toxicologic la pacienţii cu intoxicaţii acute a fost pozitiv pentru toate grupele de medicamente sau toxice implicate.

Examenul de urină la pacienţii cu rabdomioliză evidenţiază proteinurie, cilindri pigmentari şi cristale de acid uric, precum şi tulburări ale electroliţilor sugestive pentru IRA (27, 28).

Complicaţiile sistemice precoce includ hiperkaliemia, hipocalcemia, aritmiile cardiace, stopul cardiac şi afectarea hepatică (25%) prin eliberarea proteazelor musculare. Complicaţiile sistemice tardive sunt reprezentate de IRA (15%) şi CID, dezvoltate la 12-72 ore după injuria acută musculară (24,26). Precoce sau tardiv apar complicaţii locale : sindromul compartiment (în cazul afectării grupelor musculare cu expansiune limitată de fascii strânse) şi paralizii prin compresiune (29). O întârziere de peste 6 ore în diagnosticul acestei complicaţii poate duce la alterări musculare ireversibile sau deces. Fasciotomia decompresivă se va lua în discuţie dacă presiunea compartimentală este mai mare de 30 mmHg (30).

Complicaţiile precoce înregistrate de noi sunt diselectrolitemiile (43.75%), afectarea hepatică (25%), IRA majoră (12.5%), pareza de nerv (1 caz). Nu am evidenţiat nici o complicaţie tardivă.

Tratamentul rabdomiolizei (tab. II) include stabilizarea şi resuscitarea pacienţilor, cu măsuri concomitente de prezervare a funcţiei renale (28).

Studii retrospective au arătat beneficiul rehidratării masive precoce care reduce riscul IRA. Hidratarea agresivă creşte rata filtrării glomerulare, îmbunătăţeşte livrarea de oxigen la nivelul tubilor renali şi diluează toxinele. Diureza forţată începută în primele 6 ore de la internare a redus incidenţa IRA (3,25). În ciuda tratamentului, pacienţii cu rabdomioliză dezvoltă frecvent

TABELUL II

Managementul rabdomiolizei (adaptat după 11,28,31,32,33,34,35)

Scopul urmărit	Mijloace
1. Prevenţia şi detectarea precoce a rabdomiolizei	Monitorizarea coloraţiei şi volumului urinar Determinări repetate ale CK serice
2. Limitarea distrugerilor musculare ulterioare	Limitarea imobilizării în decubit dorsal Desfacerea îmbrăcăminţii strânse Monitorizare pentru sindromul compartiment Escarotomie, fasciotomie şi toaleta plăgilor Administrare de antivenin, antibiotice sau antidot când este cazul
3. Creşterea clearence-ului toxinelor şi reducerea riscului de apariţie a IRA cu obţinerea unei diureze de 300 mL/oră până la dispariţia mioglobinuriei, ulterior un debit urinar de > 150 mLl/oră până CK scade sub 1000 U/L	Plasarea sondei urinare Administrare de cristaloide izotone Administrare de albumină desodată Alcalinizarea urinii (pH >6) Manitol 100 ml din soluţia 25% în 15 minute împreună cu furosemid 40-120 mg i.v. Furosemid 200 mg în 2 ore, dacă nu răspunde la manitol Hemodializă Hemofiltrare veno-venoasă continuă şi dializă Monitorizarea fluidelor administrate şi a diurezei, cântărire frecventă, examinarea clinică (distensia jugularelor, edeme, ascultaţia bazelor pulmonare) pentru a surprinde hiperhidratarea sau debutul IRA Cateter Swan Ganz pentru monitorizarea presiunii capilare pulmonare, ce reflectă mai fidel statusul volemic.
4. Prevenirea disocierii mioglobinei în metabolitul său nefrotoxic (ferihemat)	Alcalinizarea urinii cu bicarbonat Diuretice de ansă Menţinerea pH-ului urinar >6-6,5 şi pH-ului plasmatic la 7,40-7,45
5. Tratamentul • Hiperkaliemiei	Administrare precoce de Kayexalate p.o. (30-60 g în sorbitol 20% dacă intestinal este funcţional) Administrare i.v. de glucoză hipertonă tamponată cu insulină (în 5 minute) când $K^+ > 6,5$ mEq/L Administrare prudentă de clorură sau gluconat de calciu (10% 5-10 mLl în 2 min) dacă hiperkaliemia se asociază cu instabilitate hemodinamică sau aritmii.
• Hiperfosfatemiei şi hipocalcemiei	Administrarea orală de carbonat sau hidroxid de calciu pentru corecţia hiperfosfatemiei. Administrarea preparatelor de calciu este indicată doar în caz de modificări ECG de hipocalcemie sau hiperkaliemie sau în caz de tetanie manifestă.
6. Tratamentul complicaţiilor (hiperkaliemie, acidoză, encefalopatie uremică, pericardită uremică sau hiperhidratare) care nu răspund la tratament uzual	Dializă zilnică Hemofiltrare continuă Dializă peritoneală (rar indicată)
7. Tratamentul CID (când sângerările sunt masive)	Administrare de plasmă proaspătă congelată Heparină
8. Tratament antioxidant şi de limitare a formării de radicali liberi	Pentoxifilină – îmbunătăţeşte fluxul în microcirculaţie, scade adeziunea neutrofilelor şi eliberarea de citokine. Vitamina E, vitamina C, minerale (Zn, Mn, Se) – au activitate antioxidantă.

necroză tubulară acută oligurică, situaţie în care se va efectua zilnic hemodializă. În timp, majoritatea pacienţilor recuperează funcţia renală, mai ales în lipsa unei patologii renale preexistente (23).

Muşchiul scheletic se recuperează cu minime sechele permanente după un episod de rabdomioliză. Supravieţuirea în rabdomioliză este de peste 77%, iar în prezenţa tratamentului intensiv, inclusiv cu hemodializă, majoritatea deceselor se datorează altor leziuni sau boli ale pacientului şi nu sunt un rezultat direct al rabdomiolizei (11, 31,32).

Pacienţii din studiul nostru au primit tratament în conformitate cu recomandările din literatură, inclusiv hemofiltrare venovenoasă continuă (1 caz). Toţi pacienţii supravieţuitori episodului de intoxicaţie acută medicamentoasă complicată cu rabdomioliză au recuperat complet funcţia renală şi nu au rămas cu sechele musculare.

Lotul nostru a avut o rată de supravieţuire de 87,5%. Cauza principală a morţii la cei 2 pacienţi care au decedat a fost insuficienţa organică multiplă, respectiv insuficienţa hepatică fulminantă toxică (prin intoxicaţie acută cu cloroform, acetonă şi etanol), cu tulburări de coagulare severe (CID), ambii pacienţii fiind cu etilism cronic şi tare organice preexistente.

CONCLUZII

Rabdomioliza non-traumatică este un sindrom cu potenţial letal, cu un larg spectru de manifestări clinice şi paraclinice, întâlnit la 16,7% dintre pacienţii cu alterarea stării de conştienţă spitalizaţi într-un serviciu de medicină internă. Tabloul clinic variază de la mialgii la slăbiciune musculară severă, cu simptome sugerând implicarea altor organe şi sisteme, necesitând efectuarea unui diagnostic diferenţial atent, mai ales la pacienţii obnubilaţi sau agitaţi. Alcoolismul, medicamentele, toxicele, efortul fizic intens, convulsiile, imobilizarea prelungită în anumite poziţii sunt cele mai frecvente cauze ale rabdomiolizei non-traumatice. Diagnosticul este confirmat de dozarea CK. IRA şi diselectrolitemiile (ce explică apariţia aritmiilor) reprezintă complicaţiile majore ale rabdomiolizei. Tratată corect, rabdomioliza are un prognostic bun, cu supravieţuire de peste 80%, fără sechele definitive.

BIBLIOGRAFIE

1. Warren J, Blumberg P, Thompson P. Rhabdomyolysis : a review. *Muscle Nerve* 2002 ; 25 : 332-347.
2. Vanholder R, Sever MS, Erek E, Lameire N. Rhabdomyolysis. *J Am Soc Nephrol* 2000 ; 11 : 1553-1561.
3. Rosa NG, Silva G, Teixeira A, Rodrigues F, Araujo JA. Rhabdomyolysis. *Acta Med Port* 2005 ; 18 : 271-281.
4. Rutecki GW, Ognibene AJ, Geib JD. Rhabdomyolysis in antiquity : From ancient descriptions to scientific explanation. *Pharos* 1998 ; 61 : 18-22.
5. Bywaters EGL, Beall D. Crush injuries with impairment of renal function. *Br Med J* 1941 ; 1 : 427–432.
6. Bywaters EGL, Popjak G. Experimental crushing injury : Peripheral vascular collapse and other effects of muscle necrosis in the rabbit. *Surg Gynecol Obstet* 1942 ; 75 : 612 -627.
7. Grossman RA, Hamilton RW, Morse BM, Penn AS, Goldberg M. Nontraumatic rhabdomyolysis and acute renal failure. *N Engl J Med* 1974 ; 291 : 807-811.
8. Vega J, Gutierrez M, Goecke H, Idiaquez J. Renal failure secondary to effort rhabdomyolysis : report of three cases. *Rev Med Chil* 2006 ; 134 : 211-216.
9. Lin AC, Lin CM, Wang TL, Leu JG. Rhabdomyolysis in 119 students after repetitive exercise. *Br J Sports Med* 2005 ; 39 : e3.
10. Gahlinger PM. Club drugs : MDMA, gamma-hydroxybutyrate (GHB), Rohypnol, and ketamine. *Am Fam Physician* 2004 ; 69 : 2619-2626.

11. Criddle LM. Rhabdomyolysis. Pathophysiology, recognition, and management. *Critical Care Nurse* 2003 ; 23 : 14-30.
12. Melli G, Chaundhry V, Cornblath DR. Rhabdomyolysis : an evaluation of 475 hospitalized patients. *Medicine (Baltimore)* 2005 ; 84 : 377-385.
13. Tanaka M, Miyazaki Y, Ishikawa S, Matsuyama K. Alcoholic ketoacidosis associated with multiple complications : report of 3 cases. *Intern Med* 2004 ; 43 : 955-959.
14. Bessa O Jr. Alcoholic rhabdomyolysis : a review. *Conn Med* 1995 ; 59 : 519-521.
15. Sofat N, Bell S, Turner J, Warrens AN. A case of acute renal failure and compartment syndrome after an alcoholic binge. *J Accid Emerg Med* 1999 ; 16 : 296-298.
16. Muthukumar T, Jha V, Sud A et al. Acute renal failure due to nontraumatic rhabdomyolysis following binge drinking. *Ren Fail* 1999 ; 21 : 545-549.
17. Qiu LL, Nalin P, Huffman Q et al. Nontraumatic rhabdomyolysis with long-term alcohol intoxication. *J Am Board Fam Pract* 2004 ; 17 : 54-58.
18. Lopez JR, Rojas B, Gonzales MA, Terzic A. Myoplasmic Ca^{2+} concentration during exertional rhabdomyolysis. *Lancet* 1995 ; 345 :424-425.
19. Sauret JM, Marinides G, Wang GK. Rhabdomyolysis. *Am Fam Physician* 2002 ; 65 : 907-912.
20. Holt S, Moore K. Pathogenesis of renal failure in rhabdomyolysis : The role of myoglobin. *Exp Nephrol* 2000 ; 8 : 72-76.
21. Huerta-Alardin AL, Varon J, Marik PE. Bench-to-bedside review : Rhabdomyolysis - an overview for clinicians. *Crit Care* 2005 ; 9 : 158-169.
22. Del Vecchio LR, Bertazzoni G, Attalla EE, Rosa A, Cipollone L. Non-traumatic rhabdomyolysis : clinical and laboratory diagnosis, assessment of renal complications. *Clin Ter* 2002 ; 153 : 31-44.
23. Hoogwerf B, Kern J, Bullock M, Comty C. Phencyclidine-induced rhabdomyolysis and acute renal failure. *Clin Toxicol* 1979 ; 14 : 47-53.
24. Russel T. Acute renal failure related to rhabdomyolysis : pathophysiology, diagnosis, and collaborative management. *Nephrol Nurs J* 2000 ; 27 : 567-577.
25. Fernandez WG, Hung O, Bruno GR, Galea S, Chiang WK. Factors predictive of acute renal failure and need for hemodialysis among ED patients with rhabdomyolysis. *Am J Emerg Med* 2005 ; 23 : 1-7.
26. White SR. Amphetamine toxicity. *Semin Resp Crit Care Med* 2002 ; 23 : 27-36.
27. Polderman KH. Acute renal failure and rhabdomyolysis. *Int J Artif Organs* 2004 ; 27 : 1030-1033.
28. Russell TA. Acute renal failure related to rhabdomyolysis : pathophysiology, diagnosis, and collaborative management. *Nephrol Nurs J* 2000 ; 27 : 567-577.
29. Mrsic V, Nesek Adam V, Grizelj Stojcic E, Rasic Z, Smiljanic A, Turcic I. Acute rhabdomyolysis : a case report and literature review. *Acta Med Croatica* 2008 ; 62 : 317-322.
30. Daher Ede F, Silva Junior GB, Brunetta DM, Pontes LB, Bezerra GP. Rhabdomyolysis and acute renal failure after strenuous exercise and alcohol abuse : case report and literature review. *Sao Paulo Med J* 2005 ; 123 : 33-37.
31. Bagley WH, Yang H, Shah KH. Rhabdomyolysis. *Intern Emerg Med* 2007 ; 2 : 210-218.
32. Ronco C. Extracorporeal therapies in acute rhabdomyolysis and myoglobin clearance. *Crit Care* 2005; 9 : 141-142.
33. Zager RA. Heme protein-ishcemic interactions at the vascular, intraluminal, and renal tubular cell levels : Implications for the therapy of myoglobin-induced renal injury. *Renal Failure* 1992 ; 14 : 341-344.
34. Mandell G. ARDS, neutrophils, and pentoxifylline. *Am Rev Resp Dis* 1988 ; 136 : 1103-1105.
35. Maclin L. Free radical tissue damage : protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J* 1987 ; 1 : 441-445.

NIVELUL EXPRESIEI FACTORULUI DE PROLIFERARE Ki67 ÎN ASTMUL BRONŞIC

C.C. Grigoraş[1], Adriana Grigoraş[2], Tr. Mihăescu[1], Liliana Vereş[3], E. Carasevici[3]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Disciplina de Pneumologie
2. Disciplina de Histologie
3. Disciplina de Imunologie

THE EXPRESSION LEVEL OF Ki67 PROLIFERATION IN BRONCHIAL ASTHMA (Abstract): In this paper we want to study the changes in the expression of cell proliferation factor Ki67 at the respiratory epithelium level in patients diagnosed with bronchial asthma. **Material and methods**: Twenty one patients with bronchial asthma having different degrees of severity (according to GINA 2002) have been included in our study. Fragments of bronchial mucosa were obtained through fiberbronchoscopy, prepared for histological examination in view of immune marking with anti-Ki67 antibodies. **Results**: Microscopic examination revealed a progressive increase in the number of Ki67 cells at the respiratory epithelium level corresponding to the severity of asthma (following FEV1 parameters). **Conclusion**: The increase in the cell proliferation at the respiratory epithelium level represents one of the mechanisms that can help in rebuilding the epithelial structure destroyed by the chronic aggression that takes place. Key words: BRONCHIAL ASTHMA, Ki67, RESPIRATORY EPITHELIUM

În astmul bronşic există o agresiune cronică care se exercită asupra epiteliului respirator. Acesta devine fragil, fapt care se exprimă morfologic prin aspecte de denudare totală sau parţială a epiteliului, modificări de hiperplazie a celulelor caliciforme şi uneori de metaplazie scuamoasă, constituind în acelaşi timp un sediu important al secreţiei de citokine (1,2). Răspunsul epitelial se exprimă printr-o creştere a ratei de proliferare celulară şi prin "modificări" ale supravieţuirii celulare secundar intervenţiei proteinelor implicate în reglarea apoptozei (3).

Obiectivul principal al acestui studiu este acela de a observa prezenţa şi calitatea modificărilor de expresie a factorului de proliferare Ki67 la nivelul epiteliului respirator, la pacienţii cu astm bronşic în stadii diferite de severitate.

MATERIAL ŞI METODĂ

Au fost luaţi în studiu un număr de 21 de pacienţi cu astm bronşic ce au fost dispensarizaţi prin Ambulatoriul de Specialitate al Spitalului Clinic de Pneumologie Iaşi în perioada ianuarie 2007- august 2008. Acestora li s-au alăturat 2 martori cu mucoasă bronşică normală, în vederea aprecierii calităţii tehnicilor anatomo-patologice realizate.

Criteriile de includere în lotul examinat au fost următoarele:

- pacienţi nefumători (nefumători propriu-zişi);
- certificarea diagnosticului de astm bronşic anterior efectuării fibrobronhoscopiei (anamneză concludentă, istoric, obstrucţie bronşică cu reversibilitate semnificativă la bronhodilatatoare inhalatorii);
- pacienţi fără altă patologie pulmonară acută sau cronică asociată;
- astm parţial/total controlat în momentul examinării conform GINA 2006 (chestionar de control al astmului ACT = 20) (4);
- toţi pacienţii se află sub tratament antiinflamator de fond (corticosteroid inhalator);
- capacitatea pacientului de a efectua corect o spirometrie, care să îndeplinească criteriile de acceptabilitate şi de reproductibilitate;
- consimţământul bolnavului de a efectua examinarea fibrobronhoscopică cu recoltarea unor fragmente de mucoasă bronşică;

Criteriile de excludere au fost următoarele:

- pacienţi fumători;
- absenţa acceptului pacientului de a fi supus unui examen fibrobronhoscopic;
- contraindicaţiile relative de efectuare a fibrobronhoscopiei (vârsta înaintată - de peste 75 ani, diateze hemoragice, insuficienţă hepatică sau renală avansată, obstrucţie bronşică severă – VEMS < 25% din prezis sau sub 1 L/s, bolnavi în stadii terminale, condiţii patologice care constituie contraindicaţii pentru administrarea xilinei, afecţiuni cardiace majore, precum infarctul miocardic recent sau tulburări de ritm grave, alte boli asociate severe).

Pacienţii au fost evaluaţi anamnestic şi prin explorare funcţională pulmonară (spirometrie) pentru ca apoi să fie încadraţi într-un stadiu de gravitate a bolii astmatice conform clasificării GINA 2002 (4).

Ulterior, s-a realizat examinarea fibrobronhoscopică cu prelevarea de fragmente de mucoasă bronşică din pintenii lobarei medii sau bronhiei lobare inferioare drepte. Acestea au fost fixate în formol şi prelucrate prin metoda includerii la parafină. Pentru a se reduce la minim riscul unei recoltări insuficiente sau neconcludente, la fiecare pacient s-a practicat recoltarea unui număr de 5-7 fragmente tisulare diferite.

Pentru realizarea obiectivului principal al studiului, fragmentele de mucoasă bronşică recoltate au fost supuse tehnicii de imunomarcaj cu anticorpi anti-Ki67 (Clone MIB-1, lot 00005506) prin metoda avidină-biotină-peroxidază. Evidenţierea reacţiei antigen-anticorp s-a realizat cu ajutorul unui substrat cromogen de tip 3,3'-diaminobenzidină (DAB).

Examinarea microscopică s-a realizat cu ajutorul microscopului Eclipse E600 Nikon, iar imaginile preluate cu camera DN100, au fost prelucrate cu programul Lucia Net.

În analiza statistică privind aprecierea gradului de asociere (corelaţie) s-au utilizat teste specifice de corelaţie pentru variabile cantitative cât şi pentru variabile calitative. Din această categorie au fost folosite testele: Pearson, CHI – pătrat (χ^2), Spearman, Gamma (5). În urma aplicării acestor teste s-au luat în discuţie principalii parametri de interes iar în funcţie de valorile acestora s-au stabilit concluziile. Astfel, *p* parametrul de referinţă calculat în cadrul testelor reprezintă nivelul de semnificaţie al testului, care s-a comparat cu $p=0,05$ corespunzător unei încrederi de 95%, acesta având valori semnificative pentru $p_{calculat}<0,05$.

REZULTATE

În cadrul grupului de pacienţi analizaţi, raportul bărbaţi/femei a fost de 10/11, vârsta medie 44,1 +/- 16,1 ani, mediul de provenienţă urban/rural 17/4, iar durata medie a astmului a fost de 16,6 +/- 9,7 ani.

După realizarea testelor de exporare funcţională pulmonară (spirometria), pacienţii au fost încadraţi conform criteriilor GINA 2002 în: astm bronşic intermitent (4 cazuri), astm bronşic uşor persistent (6 cazuri), astm bronşic moderat persistent (8 cazuri) şi astm bronşic sever persistent (3 cazuri).

Examenul imunohistochimic cu anticorpi anti-Ki67 a furnizat următoarele rezultate:

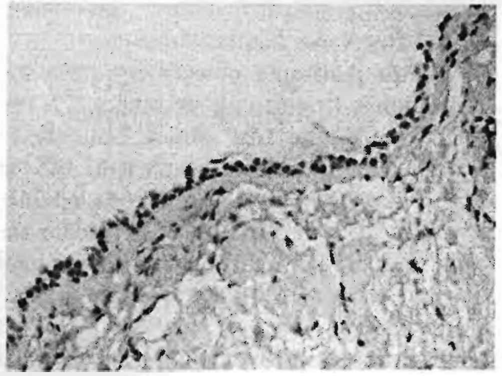


Fig. 1. Reacţie negativă (-) la nivelul epiteliului respirator -martor, IHC cu Ac anti-Ki67 x 200

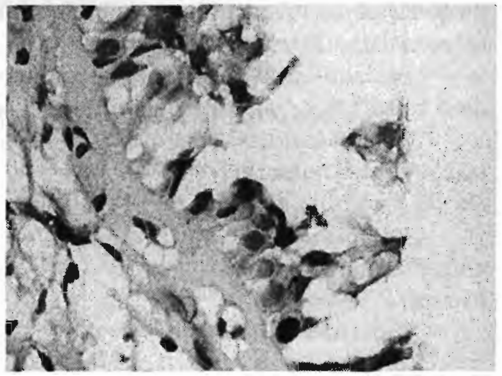


Fig. 2. Reacţie pozitivă (+) la nivelul epiteliului respirator – astm bronşic intermitent, IHC cu Ac anti-Ki67 x 400

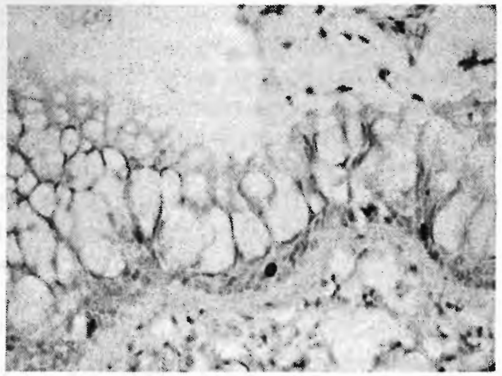


Fig. 3. Reacţie pozitivă (+ +) la nivelul epiteliului respirator – astm bronşic moderat persistent, IHC cu Ac anti-Ki67 x 200

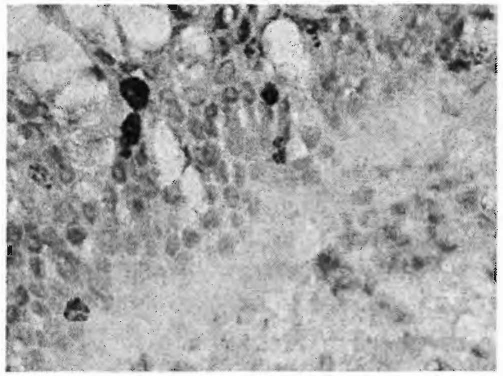


Fig. 4. Reacţie pozitivă (+ + +) la nivelul epiteliului respirator – astm bronşic sever persistent, IHC cu Ac anti-Ki67 x 400

A) la cazurile martor:

- s-a observat lipsa proliferării celulare (reacţie negativă) pe zone întinse ale epiteliului respirator bronşic (fig. 1);
- în mod punctual, în structura epiteliului de suprafaţă a mucoasei bronşice au fost remarcate zone de proliferare celulară (reacţie slab pozitivă), exprimate printr-un marcaj pozitiv a câte unui nucleu din vecinătatea membranei bazale.

B) la pacienţii cu astm bronşic s-au constatat următoarele aspecte:

- în cele 4 cazuri de astm bronşic intermitent, pozitivitatea reacţiei pentru Ki67 a fost prezentă într-o proporţie mică (asemănătoare cu martorii), ea fiind notată „în focar" şi doar la câteva celule epiteliale localizate în apropierea membranei bazale (fig. 2). De asemenea, au fost identificate zone întinse de epiteliu bronşic în care nu s-au observat zone de proliferare celulară.
- numărul ariilor de proliferare celulară nu a fost semnificativ mai mare la persoanele cu astm bronşic uşor persistent, comparativ cu cazurile de astm bronşic intermitent, reacţiile pozitive fiind notate şi în zonele de epiteliu respirator integru sau în cele parţial/total denudate.
- în cazul pacienţilor cu astm bronşic moderat persistent s-a constatat o creştere a numărului celulelor Ki67 pozitive în structura epiteliului respirator. Aceste celule au prezentat fie o distribuţie „focală" (zone întinse de epiteliu în care apare câte un nucleu Ki67-pozitiv din loc în loc) (fig. 3), fie au fost „concentrate" în arii de proliferare celulară (zone de epiteliu în care s-a remarcat un număr mai mare de nuclei Ki67-pozitivi).
- numărul maxim de celule Ki67 pozitive a fost observat la persoanele cu astm bronşic sever persistent, acestea fiind fie „dispersate" în structura epiteliului fie grupate în anumite „zone" de proliferare (fig. 4).

Studiul statistic nonparametric realizat în vederea stabilirii gradului de asociere între nivelul expresiei Ki67 la nivelul epiteliului respirator şi severitatea formei de astm a relevat prezenţa unui coeficient de corelaţie de 0,887 (corelaţie semnificativă), aşa cum se remarcă şi din datele prezentate în tabelul I şi II.

De asemenea s-a constat faptul că nivelul Ki67 nu diferă semnificativ în cazul astmului bronşic intermitent comparativ cu astmul bronşic uşor persistent (p= 0,82, (χ^2= 0,046, 955CI). Studiul statistic a relevat faptul că valorile VEMS prezintă o corelaţie semnificativă inversă cu nivelul proliferării celulare, astfel că pacienţii ce au prezentat valori ridicate ale VEMS au avut şi un număr mic de celule Ki67 (r= -0,8851, p <0,01) (tabelul III şi fig. 5).

DISCUŢII

În mod firesc, un epiteliu denudat parţial sau total va răspunde printr-o creştere a nivelului de proliferare, cu scopul refacerii integrităţii epiteliale (6). Certificarea acestui fenomen a reprezentat obiectivul principal a numeroase studii din literatura de specialitate, care au evaluat gradul expresiei diferiţilor factori de proliferare (Ki67, PCNA) la nivelul epiteliului de acoperire în astmul bronşic.

Pentru a evidenţia nivelul şi variabilitatea expresiei acestui factor de proliferare la nivelul epiteliului respirator în funcţie de severitate în boala astmatică am realizat imunomarcajul cu anticorpi anti-Ki67.

Examinarea microscopică a relevat o creştere a nivelului proliferării la nivelul epiteliului bronşic faţă de fragmentele tisulare recoltate de la martori, fără ca în ansamblu epiteliul să fie unul de tip hiperproliferativ. Mai mult, celulele Ki67 pozitive au fost cu predilecţie situate în vecinătatea membranei bazale, ele fiind cel mai des o apariţie „focală"

TABELUL I

Parametrii estimaţi în testarea asocierii Ki76 vs. gradul de severitate al astmului bronşic

	Chi-pătrat χ^2	**df**	**P** 95% interval de încredere
Pearson Chi-pătrat - χ^2	30.97743	df=6	0.00003
M-LChi-square	32.52342	df=6	0.00001
Coeficient de corelaţie (Spearman Rank R)	0.88775		0.000

TABELUL II

Rezultatul testului de corelaţie a nivelului Ki67 vs. gradul de severitate al astmului bronşic

Nivelul Ki67 vs. gradul de severitate al astmului bronşic	**r-coeficient de corelaţie (95% interval de confidenţă)**	**p**
Testul Gamma	0.88775	0.000

TABELUL III

Rezultatul testului de corelaţie a nivelului Ki67 vs. VEMS

Nivelul Ki67 vs. VEMS(%)	**r-coeficient de corelaţie (95% interval de confidenţă)**	**p**
Testul Gamma	0.8851	0.000

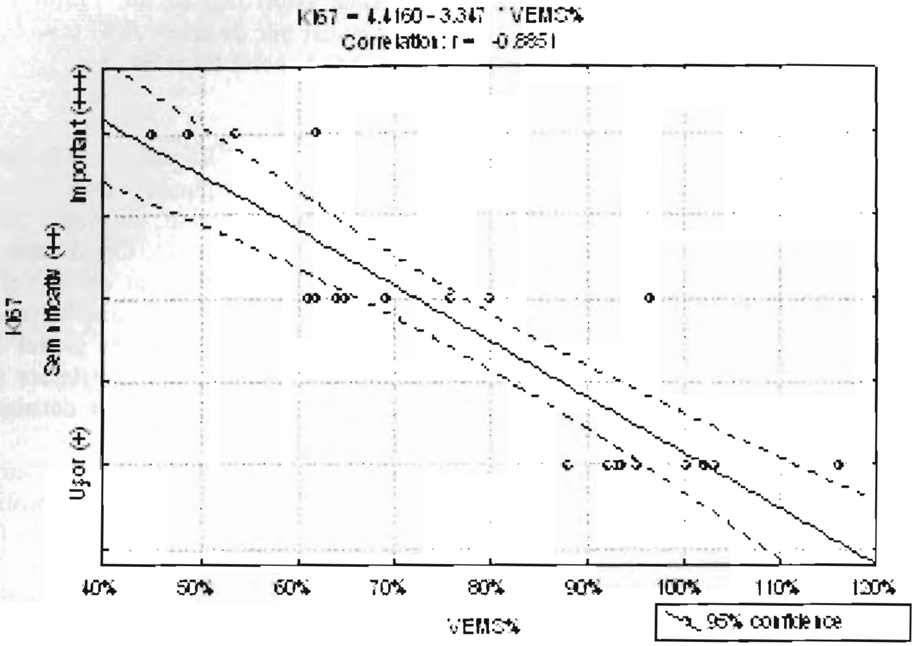


Fig. 5. Dreapta de regresie în corelaţia Ki67 vs. VEMS(%)

în structura epiteliului.

De asemenea, în lotul evaluat a existat o corelaţie certă între numărul celulelor Ki67 pozitive şi severitatea bolii (r= 0,887, p <0,01, 95%CI), aceste celule având un număr maxim în zonele epiteliale de proliferare, în formele sever persistente de boală astmatică.

Aceste rezultate sunt în concordanţă cu cele existente în literatură. Astfel, Cohen et al., într-un studiu realizat pe un număr de 21 subiecţi normali, 9 subiecţi cu astm bronşic uşor persistent, 31 subiecţi cu astm bronşic sever persistent şi 11 subiecţi cu bronşită cronică, au notat o creştere a expresiei factorului de proliferare Ki67 în astmul bronşic faţă de persoanele normale, mai ales în formele severe ale acestuia. Acest aspect demonstrează încă o dată că în boala astmatică există o creştere a gradului proliferării epiteliului, care contribuie la îngroşarea acestuia (7).

Aceleaşi modificări au fost observate şi de Vignola et al., care au efectuat un studiu pe un lot de 53 persoane, în care au fost incluşi şi 19 pacienţi cu astm corticodependent. Autorii studiului au constatat o relaţie directă între expresia PCNA (alt factor de proliferare celulară) şi grosimea epiteliului respirator (8).

Conform rezultatelor studiului, realizat de Druilhe et al. pe un lot de 9 martori, 9 pacienţi astmatici fără tratament steroidian şi 9 bolnavi cu astm bronşic aflaţi sub tratament corticosteroid, a fost stabilit că epiteliul bronşic, la pacienţii aflaţi sub tratament cu corticosteroizi, exprimă concomitent Bcl-2 (factor antiapoptotic), Fas, FasL şi PCNA, ultimul ca marker de proliferare celulară. Mai mult, conform aceloraşi rezultate, numărul celulelor Bcl-2 pozitive a fost corelat statistic cu intensitatea expresiei PCNA. Autorii respectivei cercetări concluzionează că tratamentul steroidian aplicat pacienţilor cu boală astmatică determină reducerea inflamaţiei (mai ales cea eozinofilică) şi promovează supravieţuirea celulară şi proliferarea celulară, posibil prin influenţarea expresiei Bcl-2 şi a PCNA (9).

CONCLUZII

La pacienţii cu astm bronşic s-a observat o creştere a proliferării celulare în structura epiteliului bronşic comparativ cu cazurile martor, dar aceasta nu a avut valori importante. Această proliferare celulară a fost grupată în nuclei focali de proliferare şi doar în formele severe au fost evidenţiate mici zone de proliferare. De asemenea, nivelul expresie Ki67 la nivelul epiteliului respirator a fost în concordanţă cu severitatea bolii.

BIBLIOGRAFIE

1. Simon J. *General Pathology.* Charleston: BiblioBazaar, 2008.
2. Kumar V, Abbas K, Fausta N. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*, 7th ed. Elsevier Saunders, 2005.
3. Majno G, Joris I. *Cells, Tissues and Disease: Principles of General Pathology.* 2nd ed. Oxford University Press, 2004.
4. *** Global strategy for asthma management and prevention (GINA). National Institute of Health. National heart, lung and blood institute, 2002. *GINA, NHLBI/WHO* 2002; 2006.
5. Everitt BS. *Modern Medical Statistics.* New York: Oxford University Press Inc., 2003.
6. Hackett TL, Knight DA. The role of epithelial injury and repair in the origins of asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2007; 7 (1): 63-68.
7. Cohen L, Tarsi J, Ramkumar T, Horiuchi TK, Cochran R, DeMartino S and the NHLBI Severe Asthma Research Program (SARP). Epithelial cell proliferation contributes to airway remodeling in severe asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176 (2): 138-145.
8. Vignola AM, Chiappara G., Siene L., Gagliardo R., Merendino AM. Proliferation and activation of bronchial epithelial cells in corticosteroid-dependent asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108 (5): 738-746.
9. Druilhe A, Wallaert B, Tsicopoulos A, Lapa E, Silva JR, Tillie-Leblond I. Apoptosis, proliferation and expression of Bcl-2, fas, and Fas Ligand in bronchial biopsies from asthmatics. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998; 19 (5): 747-757.

NOUTĂŢI

MECANISME IMPLICATE ÎN PROGRESIA BOLILOR RENALE CRONICE

Pacienţii cu boală renală cronică moderată sau avansată, sau cu insuficienţă renală terminală au un risc cardiovascular foarte mare care nu poate fi explicat în întregime prin factorii tradiţionali de risc cardiovascular. O creştere a stresului oxidativ şi inflamaţia au fost propuse ca factori de risc cardiovascular no-tradiţionali la aceşti pacienţi. Stresul oxidativ reflectă balanţa redox între mecanismele de generare şi cele antioxidante. Mecanismele oxidative sunt în prezent recunoscute a fi implicate în semnalizarea celulară şi, de asemenea, sunt componente vitale ale răspunsului imun. Acest lucru este adevărat în egală măsură şi pentru mecanismele antioxidante. În progresia bolilor renale cronice, balanţa redox nu este în echilibru şi se îndreaptă către oxidare, rezultând o tulburare a reglării proceselor celulare şi în final, determină leziune tisulară. În prezent sunt tot mai multe date care explică patogenia stresului oxidativ şi a pierderii progresive a funcţiei renale în bolile renale cronice (Okamural DM, Himmelfarb J. Tipping the redox balance of oxidative stress in fibrogenic pathways in chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2009; 12 (24): 2309-2319).

Mihaela Munteanu

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi – 2009– vol. 113, nr. 3

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE

ARTICOLE ORIGINALE

EVALUAREA PREVALENŢEI EVACUĂRII GASTRICE ÎNTÂRZIATE A SOLIDELOR LA PACIENŢII CU DISPEPSIE FUNCŢIONALĂ ŞI CORELAŢIA SA CU SIMPTOMATOLOGIA

C. Sfarti, Anca Trifan, C. Huţănaşu, Camelia Cojocariu, Ana-Maria Sîngeap, C. Stanciu
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
Institutul de Gastroenterologie şi Hepatologie Iaşi

PREVALENCE OF DELAYED GASTRIC EMPTYING OF SOLIDS IN FUNCTIONAL DYSPEPSIA AND ITS RELATIONSHIP TO SYMPTOMS (Abstract): The relationship between functional dyspepsia and delayed gastric emptying of solids is still unclear. This study evaluated the prevalence of delayed gastric emptying of solids in functional dyspepsia patients and its relationship to dyspeptic symptoms. **Material and method**: 142 patients with functional dyspepsia were prospectively assessed, the solid gastric emptying was measured using ^{13}C-acid octanoic breath test and the severity of six dyspeptic symptoms (postprandial fullness, early satiety, bloating, abdominal discomfort, nausea and vomiting) was scored. **Results**: Gastric emptying of solids was delayed in 45 (31,7%) dyspeptic patients. Multivariate analysis showed that the presence and severity of nausea and vomiting were associated with delayed solid gastric emptying ($p<0.05$). Female gender was also associated with the risk of delayed gastric emptying ($p<0.05$). **Conclusions**: A subset of functional dyspepsia patients has delayed gastric emptying of solids. Female sex, the presence and severity of nausea and vomiting are independently associated with delayed gastric emptying of solids in these patients.

Key words: FUNCTIONAL DYSPEPSIA, GASTRIC EMPTYING OF SOLIDS, ^{13}C-ACID OCTANOIC BREATH TEST

Dispepsia funcţională este un sindrom caracterizat prin prezenţa unuia sau a mai multor simptome cu origine în regiunea gastroduodenală (plenitudine postprandială, saţietate precoce, durere sau arsură epigastrică), în absenţa oricărei cauze organice care să explice simptomatologia.

Fiziopatologia afecţiunii nu este cunoscută, dar există mai multe ipoteze discutate în prezent cum ar fi hipersenzitivitatea viscerală, tulburările de motilitate sau de acomodare gastrică, motilitatea duodeno-jejunală anormală, eozinofilie patologică sau diverse disfuncţii la nivelul sistemului nervos central (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13, 14,15,16,17,18,19,20).

Recent, comitetul Roma III a propus diferenţierea a două sindroame majore: sindromul de distress postprandial caracterizat prin plenitudine postprandială şi saţietate precoce şi sindromul durerii epigastrice caracterizat prin dureri sau arsuri epigastrice, clasificare pe care am utilizat-o în acest studiu (21,22,23,24,25,26,27,28,29, 30,31,32).

Scopurile cercetării au fost:

- Evaluarea prevalenţei evacuării gastrice întârziate a solidelor la pacienţii cu dispepsie funcţională
- Corelarea simptomatologiei cu tulburările de evacuare gastrică

MATERIAL ŞI METODĂ

În perioada ianuarie 2008-decembrie 2008, am recrutat pacienţii dirijaţi către Institutul de Gastroenterologie şi Hepatologie pentru simptome dispeptice. Toate cazurile au fost evaluate clinic şi paraclinic (probe biologice, ecografie abdominală superioară şi endoscopie digestivă superioară) pentru excluderea unor cauze organice ale simptomatologiei. Criteriile de includere au fost existenţa simptomelor dispeptice timp de peste 3 luni, în ultimele 6 luni, în absenţa oricărei afecţiuni organice, sistemice sau metabolice (Roma III). Criteriile de excludere au fost reprezentate de litiaza biliară veziculară, leziunile erozive esogastroduodenale (esofagită, ulceraţii sau ulcere gastrice sau duodenale), antecedente personale de intervenţii chirurgicale digestive majore, ciroză hepatică, afecţiuni respiratorii cronice, boli sistemice, sindroame de malabsorbţie sau afecţiuni neuropsihice. De asemenea, au fost excluşi pacienţii aflaţi sub tratament cu antiinflamatorii nesteroidiene, corticosteroizi sau antisecretorii gastrice. Fiecare pacient a completat un chestionar de dispepsie validat anterior (21, 22,23,24,25). Pacienţii au gradat ca intensitate (0 – absent, 1 – uşor, 2 – moderat, 3 - sever) şase simptome ale dispepsiei: plenitudine postprandială, saţietate precoce, meteorism, greţuri, vărsături alimentare şi durere/arsură epigastrică. Am rugat pacienţii ca în cazul durerii/arsurii epigastrice să specifice care simptom este dominant în cazul lor pentru a cuantifica un singur scor la aceste acuze. Ultima întrebare din chestionar a solicitat participanţilor să aleagă un singur simptom major din cele patru prezente în criteriile Roma III (plenitudine postprandială, saţietate precoce, disconfort sau arsură epigastrică) pentru a-i putea subîncadra în cele două sindroame definite în criteriile Roma.

Evaluarea infecţiei cu *Helicobacter pylori* a fost realizată prin biopsie în cursul endoscopiei digestive superioare sau prin test respirator cu ^{13}C-uree (^{13}C-UBT) la pacienţii care au avut un examen endoscopic normal efectuat în ultimele 3 luni.

Toţi subiecţii au semnat un consimţământ informat şi protocolul de studiu a fost aprobat de Comitetul de Etică al Institutului de Gastroenterologie şi Hepatologie Iaşi.

Evaluarea evacuării gastrice a solidelor a fost realizată prin testul respirator cu ^{13}C-acid octanoic conform metodei descrise în studii anterioare (33-35) şi adaptată recomandărilor producătorului sistemului de spectrofotometrie în infraroşu IRIS (Wagner-Analyzen Technik, Bremen, Germania). Toate testele au fost efectuate în cursul dimineţii, a jeun. Prânzul de test a constat în 2 felii de pâine albă, 5g margarină, cu 1 ou tip omletă marcat cu 100 mg de ^{13}C-acid octanoic consumat în maxim 10 minute. Pacienţii au consumat 100 mL de apă în timpul prânzului de test. Conţinutul caloric este de 250 Kcal, iar compoziţia a fost reprezentată de 42% carbohidraşi, 18% proteine şi 40% lipide. Probele respiratorii au fost recoltate înainte de masă şi apoi de 12 ori postprandial la un interval de 15-30 minute, pe o perioadă totală de 240 minute. Parametrii monitorizaţi au fost $T_{1/2}$, T_{lag} şi GEC care au fost calculaţi automat de către sistem conform formulelor recomandate de producător.

Analiza statistică

Datele au fost exprimate în procente şi valori medii (valoare medie ± deviaţie standard). Am verificat prin testul de normalitate Kolmogorov – Smirnov dacă cei 3 parametri ai evacuării gastrice a solidelor respectă în distribuţia valorilor legea normală; se constată că acest fapt nu are loc, prin urmare pentru a compara valorile parametrilor în lot am folosit teste neparametrice. Pentru a compara timpii de evacuare gastrică între 2 loturi am folosit testul neparametric Mann–Whitney, iar pentru a compara aceiaşi timpi între mai mult de 2 loturi am utilizat testul neparametric Kruskal-Wallis – în cazul în care se identifică diferenţe semnificative statistic, pentru localizarea acestora am folosit testul post-hoc Tamhane.

REZULTATE

Au fost înrolaţi în studiu 142 de pacienţi cu dispepsie funcţională conform criteriilor Roma III. Lotul a cuprins 85 femei şi 57 bărbaţi, cu vârsta medie de 49,5 ± 14,2 ani şi IMC mediu de 26,9 ± 5,1 Kg/m^2. 63 (44,3%) de pacienţi au fost diagnosticaţi cu sindromul de durere epigastrică şi 79 (55,7%) cu sindromul de distress postprandial. Grupul de control a fost reprezentat de 60 de voluntari sănătoşi la care s-a efectuat testul respirator pentru evaluarea evacuării gastrice a solidelor conform aceluiaşi protocol. Grupul a fost format din 24 bărbaţi, 36 femei, vârsta medie 28 ± 10,4 ani şi IMC mediu=23,7 ± 3 Kg/m^2.

77 (54,2%) pacien?i au fost depistaţi cu *H. pylori* şi 23 din cei negativi au declarat că au avut un tratament de eradicare eficace urmat anterior.

Distribuţia simptomelor identificate la pacienţii dispeptici prin chestionarul de simptome este prezentată în tabelul I. Cel mai frecvent simptom a fost plenitudinea postprandială, acuzată de 125 (88%) din pacienţii dispeptici, urmat de durerea/arsura epigastrică şi meteorismul abdominal, prezente la 111 (78,2%) pacienţi. O prevalenţă ridicată au avut şi saţietatea precoce depistată la 100 (70,4%)de cazuri şi greţurile acuzate de 95 (66,9%) de pacienţi. Vărsăturile au fost acuzate ceva mai rar, ele fiind prezente la 36 (25,4%) din cazurile cu dispepsie funcţională.

Evacuarea gastrică a solidelor a fost întârziată la 45 de pacienţi (31,7%). $T_{1/2}$ mediu a fost de 123,1 ± 36,9 min la dispeptici şi de 106.5 ± 19,9 min la voluntarii sănătoşi, diferenţa fiind semnificativă statistic ($p < 0,05$). T_{lag} mediu a fost de 76,2 ± 34,4 min la dispeptici şi de 68,5 ± 16,3 min la voluntarii sănătoşi, fără semnificaţie statistică ($p=0,92$), iar GEC a fost de 3,26 ± 0,49 la dispeptici şi de 3,78 ± 0,35 la voluntarii sănătoşi, diferenţa fiind, de asemenea, semnificativă statistic ($p<0,05$). În cazul T_{lag} această semnificaţie nu a fost identificată, dar această lipsă de corelaţie a fost observată şi în alte studii anterioare, ceea ce a determinat unii cercetători să nu mai considere T_{lag} ca pe un parametru fiabil de evaluare a evacuării gastrice a solidelor prin ^{13}C-OBT.

Au fost mai multe cazuri de evacuare gastrică întârziată la pacienţii cu sindrom de distress postprandial unde am identificat 28 (35,4%) de cazuri, comparativ cu pacienţii cu durere epigastrică unde am identificat 17 (27%) cazuri, fără a atinge însă pragul de semnificaţie statistică ($p=0,578$).

TABELUL I

Simptomatologia pacienţilor din lotul de studiu

Simptom	Absent (0)	Uşor (1)	Moderat (2)	Sever (3)
Greaţă	47	35	39	21
Saţietate precoce	42	41	35	24
Meteorism	31	38	56	17
Plenitudine postprandială	17	40	53	32
Durere/arsură epigastrică	31	41	42	28
Vărsături	106	21	12	3

TABELUL II

Kruskal-Wallis Test pentru corelaţii între gradele de greţuri

	Greţuri	N	Rang mediu	Statistica	Valoare
$T_{1/2}$	absent	47	56.63	Chi-pătrat	11.733
	uşor	35	76.44	df	3
	moderat	39	74.28	Semnif. asimpt. p	.008
	sever	21	91.38		SS
	Total	142			
T_{lag}	absent	47	57.00	Chi-pătrat	11.836
	uşor	35	76.30	df	3
	moderat	39	73.40	Semnif. asimpt. p	.008
	sever	21	92.43		SS
	Total	142			
GEC	absent	47	84.19	Chi-pătrat	9.505
	uşor	35	64.36	df	3
	moderat	38	70.17	Semnif. asimpt. p	.023
	sever	21	54.05		SS
	Total	141			

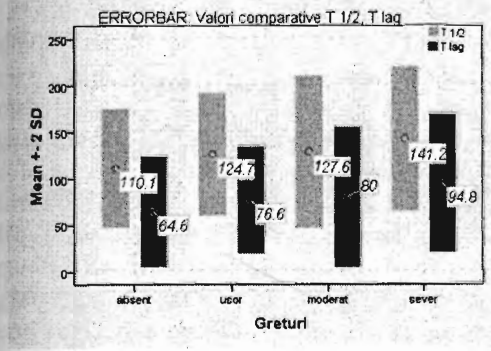


Fig. 1. Comparaţie $T_{1/2}$ şi T_{lag} în funcţie de greţuri

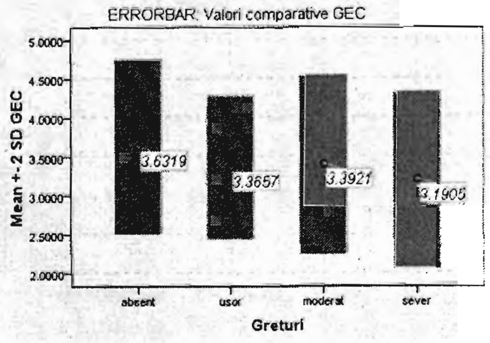


Fig. 2. Comparaţie GEC în funcţie de greţuri

IMC-ul, infecţia cu *H. pylori* şi fumatul nu au fost identificaţi ca factori predictivi independenţi de prezenţă/absenţă a tulburărilor de evacuare gastrică a solidelor. Astfel, parametrii evacuării gastrice la supraponderali vs. normoponderali au fost $T_{1/2}$ mediu=120,2 ± 37,3 min vs. 125,1 ± 36,7 min ($p>0,05$), T_{lag} mediu=74,4 ± 35,9 min vs. 77,5 ± 33,6 min ($p<0,05$), şi GEC=3,47 ± 0,60 vs. 3,5 ± 0,54 ($p>0,05$). Comparaţia parametrilor între pacienţii cu status *H. pylori* pozitiv vs. cei *H. pylori* negativ a determinat rezultate similare $T_{1/2}$ mediu=125,7 ± 38,1 vs. 120 ± 35,6 min ($p>0,05$), T_{lag} =78,6 ± 35,2 min vs. 73,5 ± 33,5 min ($p>0,05$), şi GEC mediu =3,49 ± 0,56 vs. 3,47 ± 0,57 ($p>0,05$).

Sexul feminin a reprezentat un factor de risc independent pentru prezenţa tulburărilor de evacuare gastrică, existând o diferenţă semnificativă statistic ($p<0,05$) între parametrii evaluaţi la femei ($T_{1/2}$ mediu= 129,7 ± 38,7 min, T_{lag} mediu=81,8 ± 36,1 min, GEC mediu =3,26 ± 0,49) şi bărbaţi ($T_{1/2}$ mediu=113,3 ± 32 min, T_{lag} mediu= 67,9 ± 30,4 min, GEC mediu= 3,56 ± 0,54)

Prezenţa sau absenţa simptomelor dispeptice a fost cercetată în raport cu evacuarea gastrică întârziată. Asocierea dintre severitatea simptomatologiei şi evacuarea gastrică întârziată a fost, de asemenea, inves-

TABELUL III
Kruskal-Wallis Test pentru corelaţii între gradele de vărsături

	Vărsături	**N**	**Rang mediu**	**Statistica**	**Valoare**
$T_{1/2}$	absent	106	66.20	Chi-pătrat	9.260
	uşor	21	85.19	df	3
	moderat	12	81.92	Semnif. asimpt. p	.026
	sever	3	121.33		SS
	Total	142			
T_{lag}	absent	106	66.86	Chi-pătrat	7.988
	uşor	21	80.93	df	3
	moderat	12	83.29	Semnif. asimpt. p	.046
	sever	3	122.17		SS
	Total	142			
GEC	absent	105	75.75	Chi-pătrat	8.221
	uşor	21	62.19	df	3
	moderat	12	57.29	Semnif. asimpt. p	.042
	sever	3	21.33		SS
	Total	141			

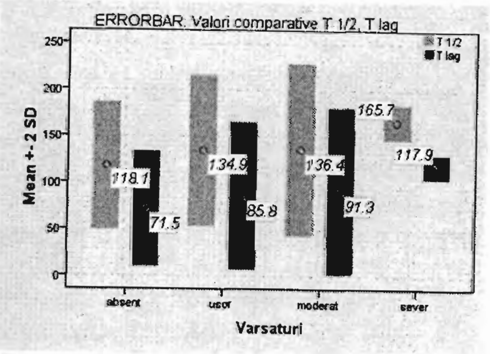


Fig. 3. Comparaţie $T_{1/2}$ şi T_{lag} în funcţie de vărsături

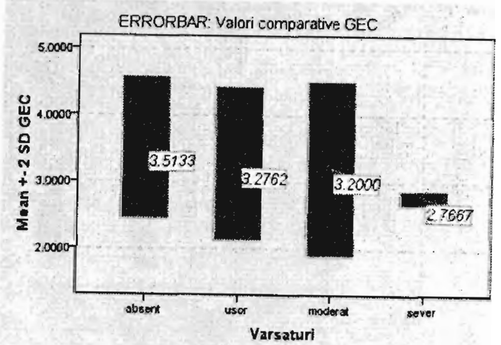


Fig. 4. Comparaţie GEC în funcţie de vărsături

tigată. În cazul saţietăţii precoce, al meteorismului abdominal şi al durerii/arsurii epigastrice, nu s-a identificat nici o corelaţie semnificativă statistic cu timpii de evacuare gastrică. Plenitudinea postprandială a prezentat corelaţie doar pentru $T_{1/2}$ şi doar între două subgrupuri de pacienţi (simptom uşor - scor 1 vs. simptom moderat - scor 2). În schimb, când am comparat greţurile şi vărsăturile cu parametrii evacuării gastrice, am obţinut corelaţii semnificative statistic atât ca prezenţă/absenţă, cât şi ca severitate a simptomelor (tabele II, III, fig. 1-4).

DISCUŢII

Dispepsia funcţională este o afecţiune heterogenă, existând numeroase ipoteze care încearcă să explice fiziopatologia bolii. Dintre acestea, evacuarea gastrică întârziată este considerat unul dintre mecanismele majore implicate. Există numeroase studii care au confirmat existenţa unei evacuări gastrice întârziate a solidelor la 30-50% din pacienţii cu dispepsie funcţională (50,51,52, 53,54). Totuşi, doar o parte dintre acestea au demonstrat existenţa unei corelaţii între simptomele dispepsiei şi evacuarea gastrică întârziată (36,37,38,39,40,41,42,43,44). Studiul de faţă încearcă să identifice prospectiv eventualele corelaţii existente între simptomele dispeptice, datele demografice şi evacuarea gastrică întârziată la pacienţii cu dispepsie funcţională.

Datele finale au evidenţiat o evacuare gastrică întârziată la 45 de pacienţi (31,7%), valoare care este în concordanţă cu rezultatele obţinute în studiile anterioare, unde prevalenţa evacuării gastrice întârziate a fost între 23-41% (37,38,41,42,43). În grupul cu dispepsie funcţională, s-a observat o evacuare gastrică a solidelor global întârziată în comparaţie cu lotul de control.

Am urmărit iniţial eventualele corelaţii dintre factorii demografici, elementele clinice generale ale lotului de studiu şi parametrii evacuării gastrice a solidelor. Singura corelaţie semnificativă am identificat-o între sexul feminin şi evacuarea gastrică întârziată, ceilalţi parametri urmăriţi (vârstă, IMC, statusul de fumător, infecţia cu *H. pylori)* nu s-au corelat cu rata evacuării gastrice a solidelor, date care sunt în concordanţă cu majoritatea cercetărilor anterioare (42,45,46)

În ceea ce priveşte corelaţia dintre simptome şi parametrii evacuării gastrice, datele obţinute în studiile anterioare nu sunt în concordanţă deplină. Astfel, Stanghellini et al. (42) au evidenţiat existenţa unei corelaţii între evacuarea gastrică întârziată a solidelor şi plenitudinea postprandială şi vărsăturile severe. Acest aspect a fost confirmat ulterior de Sarnelli et al. (36), dar au fost şi cercetări care nu identificat nici o corelaţie între simptome şi rata de evacuare gastrică (41) sau care au depistat alte corelaţii: cu greţurile severe (47) sau cu disconfortul epigastric - plenitudine şi/sau saţietate (48). Aceste date reconfirmă heterogenitatea afecţiunii şi dificultatea de selecţie a loturilor optime.

În studiul nostru, am obţinut corelaţii semnificative statistic între parametrii evacuării gastrice a solidelor greţurile şi vărsăturile ca parametri simptomatici (atât ca prezenţă/absenţă cât şi ca scor de severitate), date care sunt parţial în concordanţă cu studiile prezentate anterior. În plus, s-a identificat o diferenţă semnificativă între subgrupul de pacienţi dispeptici cu plenitudine postprandială uşoară şi cei cu plenitudine postprandială moderată, sugerând că este posibil ca şi acest simptom ar putea prezenta semnificaţie statistică în condiţiile unui lot mai mare de studiu. Faptul că simptomele care se corelează cu evacuarea gastrică întârziată într-un lot de pacienţi dispeptici sunt greţurile şi vărsăturile (simptome tipice pentru gastropareză) şi nu simptomele majore din criteriile Roma III sugerează că este posibil ca o parte din pacienţii incluşi în lotul de studiu să nu aibă dispepsie funcţională, ci să fie cazuri cu gastropareză neinvestigată. Acest aspect este posibil, deoarece metodele de diagnostic al gastroparezei nu sunt utilizate în mod curent în România.

CONCLUZII

Studiul nostru a relevat o evacuare gastrică a solidelor semnificativ mai lentă la pacienţii dispeptici comparativ cu voluntarii sănătoşi şi a identificat ca factori predictivi pentru evacuarea gastrică întârziată a solidelor la dispepsia funcţională, sexul feminin al pacienţilor şi simptome precum greţurile şi vărsăturile.

BIBLIOGRAFIE

1. Conchillo JM, Selimah M, Bredenoord AJ, Samsom M, Smout AJ. Air swallowing, belching, acid and non-acid reflux in patients with functional dyspepsia. *Aliment Pharmacol Ther* 2007 ; 25 : 965-971.
2. Talley NJ, Walker M, Aro P, et. Non ulcer dyspepsia and duodenal eosinophilia : an adult endoscopic population-based case-control study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007 ; 5 : 1175-1183
3. Rothenberg ME, Cohen MB. An eosinophil hypothesis for functional dyspepsia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007 ; 5 : 1147-1148.
4. Tack J, Bisschops R, Sarnelli G. Pathophysiology and treatment of functional dyspepsia. *Gastroenterol* 2004 ; 127 (4) : 1239-1255.
5. Castillo EJ, Camilleri M, Locke GR et al. A community-based, controlled study of the epidemiology and pathophysiology of dyspepsia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004 ; 2 : 985-996.
6. Hammer J, Eslick GD, Howell S, Altiparmak E, Talley NJ. Diagnostic yield of alarm features in irritable bowel syndrome and functional dyspepsia. *Gut* 2004 ; 53 : 666-672.
7. Merikangas KR, Kalaydjian A. Magnitude and impact of comorbidity of mental disorders from epidemiologic surveys. *Curr Opin Psychiatry* 2007 ; 20 : 353-358.
8. Pajala M, Heikkinen M, Hintikka J. Mental distress in patients with functional or organic dyspepsia : a comparative study with a sample of the general population. *Aliment Pharmacol Ther* 2005 ; 21 : 277-281.
9. Pajala M, Heikkinen M, Hintikka J. A prospective 1-year follow-up study in patients with functional or organic dyspepsia : changes in gastrointestinal symptoms, mental distress and fear of serious illness. *Aliment Pharmacol Ther* 2006 ; 24 : 1241-1246.
10. Cole J, McGuffin P, Farmer AE. The classification of depression : are we still confused ? *Br J Psychiatry* 2008 ; 192 : 83-85.
11. Li Y, Nie Y, Sha W, et al. The link between psychosocial factors and functional dyspepsia : an epidemiological study. *Chin Med J (Engl)* 2002 ; 115 : 1082-1084.
12. Alander T, Svardsudd K, Johansson S-E, et al. Psychological illness is commonly associated with functional gastrointestinal disorders and is important to consider during patient consultation : a population-based study. *BMC Medicine 2005* ; 3 : 8.
13. Hillilä MT, HämäLälnen J, Heikkinen ME et al. Gastrointestinal complaints among subjects with depressive symptoms in the general population. *Aliment Pharmacol Ther* 2008 ; 28 : 648-654.
14. Van Kerkhoven LAS, Laheij RJF, Aparicio N et al. Effect of the antidepressant venlafaxine in functional dyspepsia : a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008 ; 6 : 746-752.
15. Van Oudenhove L, Tack J. Is the antidepressant venlafaxine effective for the treatment of functional dyspepsia ? *Nat Clin Pract Gastroenterol* 2009 ; 6 : 74-75.
16. Koloski NA, Talley NJ, Boyce PM. Does psychological distress modulate functional gastrointestinal symptoms and health care seeking ? A prospective, community cohort study. *Am J Gastroenterol* 2003 ; 98 : 789-797.
17. Locke R, Weaver AL, Melton JL et al. Psychosocial Factors are linked to functional gastrointestinal disorders : a population based nested case-control study. *Am J Gastroenterol* 2004 ; 99 : 350-357.
18. Geeraerts B, Vandenberghe J, Van Oudenhove L et al. Influence of experimentally induced anxiety on gastric sensorimotor function in humans. *Gastroenterol* 2005 ; 129 : 1437-1444.
19. Van Oudenhove L, Vandenberghe J, Geeraerts B et al. Relationship between anxiety and gastric sensorimotor function in functional dyspepsia. *Psychosom Med* 2007 ; 69 : 455-463.
20. Tack J, Caenepeel P, Fischler B, et al. Hypersensitivity to gastric distention is associated with symptoms in functional dyspepsia. *Gastroenterol* 2001 ; 121 : 526-35.
21. vanOudenhove L, Vandenberghe J, Geeraerts B et al. Determinants of symptoms in functional dyspepsia : gastric sensorimotor function, psychosocial factors or somatisation ? *Gut* 2008 ; 57 : 1666-1673.
22. Halder S, Talley NJ. Functional dyspepsia : a new Rome III paradygm. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2007 ; 10 : 259-272
23. El-Serag HB, Talley NJ. Systemic review : the prevalence and clinical course of functional dyspepsia. *Aliment Pharmacol Ther* 2004 ; 19 (6) : 643-54.
24. Stanghellini V, Tosetti C, Paternico A et al. Risk indicators of delayed gastric emptying of solids in patients with functional dyspepsia. *Gastroenterol* 1996 ; 110 : 1036-42.
25. Tack J, Talley NJ, Camilleri M et al. Functional gastroduodenal disorders. *Gastroenterol* 2006 ; 130 : 1466-1479.

26. Tack J, Bisschops R, Sarnelli G. Pathophysiology and treatment of functional dyspepsia. *Gastroenterol* 2004 ; 127 : 1239-1255.
27. Camilleri M, Dubois D, Coulie B et al. Prevalence and socioeconomic impact of upper gastrointestinal disorders in the United States : results of the US Upper Gastrointestinal Study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005 ; 3 : 543-552.
28. Fischler B, Tack J, De Gucht V et al. Heterogeneity of symptom pattern, psychosocial factors and pathophysiological mechanisms in severe functional dyspepsia. *Gastroenterol* 2003 ; 124 : 903-910.
29. Choung RS, Locke GR, Schleck CD et al. Do distinct dyspepsia subgroups exist in the community ? A population-based study. *Am J Gastroenterol* 2007 ; 102 : 1983-1989.
30. vanKerkhoven LA, Laheij RJ, Meineche-Schmidt V et al. Functional dyspepsia : not all roads seem to lead to Rome. *J Clin Gastroenterol* 2009 ; 43 : 118-122.
31. Aro P, Talley NJ, Storskrubb T et al. Associations with uninvestigated and functional dyspepsia (Rome III) in a random adult population : the Kalixanda study. *Gastroenterol* 2009 ; 137 : 94-100.
32. Koloski NA, Talley NJ, Boyce PM. Epidemiology and health care seeking in the functional GI disorders : a population-based study. *Am J Gastroenterol* 2002 ; 97 : 2290-2299.
33. Choi MG, Camilleri M, Burton DD, Zinsmeister AR, Forstrom LA, Nair KS. ^{13}C-octanoic acid breath test for gastric emptying of solids : accuracy, reproducibility, and comparison with scintigraphy. *Gastroenterol* 1997 ; 112 : 1155-1162.
34. Sutton DG, Bahr A, Preston T, Christley RM, Love S, Roussel AJ. Validation of the ^{13}C-octanoic acid breath test for measurement of equine gastric emptying rate of solids using radioscintigraphy. *Equine Vet J* 2003 ; 35 : 27-33.
35. Szarka LA, Camilleri M, Vella A et al. A stable isotope breath test with a standard meal for abnormal gastric emptying of solids in the clinic and in research. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008 ; 6 : 635-643.
36. Sarnelli G, Caenepeel P, Geypens B, Janssens J, Tack J. Symptoms associated with impaired gastric emptying of solids and liquids in functional dyspepsia. *Am J Gastroenterol* 2003 ; 98 : 783-788.
37. Simren M, Vos R, Janssens J, Tack J. Unsuppressed postprandial phasic contractility in the proximal stomach in functional dyspepsia : relevance to symptoms. *Am J Gastroenterol 2003* ; 98 : 2169-2175.
38. Cuomo R, Sarnelli G, Grasso R, Alfieri M, Niccolai E, Pumpo R, Tack J, Budillon G. Functional dyspepsia symptoms, gastric emptying and satiety provocative test : analysis of relationships. *Scand J Gastroenterol* 2001 ; 36 : 1030-1036.
39. Tack J, Demedts I, Dehondt G, Caenepeel P, Fischler B, Zandecki M, Janssens J. Clinical and pathophysiological characteristics of acute-onset functional dyspepsia. *Gastroenterol* 2002 ; 122 : 1738-1747.
40. Tack J, Talley NJ, Coulie B, Dubois D, Jones MP. Association of weight loss with gastrointestinal symptoms in a tertiary-referred patient population. *Gastroenterol* 2003 ; 124 : A124.
41. Talley NJ, Verlinden M, Jones M. Can symptoms discriminate among those with delayed or normal gastric emptying in dysmotility-like dyspepsia ? *Am J Gastroenterol* 2001 ; 96 : 1422-1428
42. Stanghellini V, Tosetti C, Paternicň A et al. Risk indicators of delayed gastric emptying of solids in patients with functional dyspepsia. *Gastroenterol* 1996 ; 110 : 1036-1042
43. Talley NJ, LockeGR, Lahr BD et al. Functional dyspepsia, delayed gastric emptying, and impaired quality of life. *Gut* 2006 ; 55 (7) : 933-939.
44. Pallotta N, Pezzotti P, Calabrese E, Baccini F, Corazziari E. Relationship between gastrointestinal and extra-gastrointestinal symptoms and delayed gastric emptying in functional dyspeptic patients *World J Gastroenterol* 2005 ; 11(28) : 4375-4381.
45. Wegener M, Borsch G, Schaffstein J, Reuter C, Leverkus F. Frequency of idiopathic gastric stasis and intestinal transit disorders in essential dyspepsia. *J Clin Gastroenterol* 1989 ; 11 : 163-168.
46. Scott AM, Kellow JE, Shuter B, Kowan H et al. Intragastric distribution and gastric emptying of solids and liquids in functional dyspepsia. Lack of influence of symptom subgroups and *H. pylori* associated gastritis. *Dig Dis Sci* 1993 ; 38 : 2247-2254.
47. Tack J, Piessevaux H, Coulie B et al. Role of impaired gastric accommodation to a meal in functional dyspepsia. *Gastroenterol* 1998 ; 115 : 1346-1352.
48. Karamanolis G, Caenepeel P, Arts J, Tack J. Association of the predominant symptom with clinical characteristics and pathophysiological mechanisms in functional dyspepsia. *Gastroenterol* 2006 ; 130 : 296-303.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE

ARTICOLE ORIGINALE

PREVALENŢA INFECŢIEI CU *HELICOBACTER PYLORI* LA PACIENŢII CU DIABET ZAHARAT

Irina Ciortescu[1], C. Sfarti[1], Mărioara Stan[1], Mariana Graur[2], C. Stanciu[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Institutul de Gastroenterologfie şi Hepatologie Iaşi
2. Clinica de Diabet şi Boli de Nutriţie

PREVALENCE OF HELICOBACTER PYLORI INFECTION IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS (Abstract): *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) and diabetes mellitus are the most important causes of dyspepsia. The aim of this study was to evaluate the prevalence of *H. pylori* infection in patients with diabetes mellitus, and to assess whether the infection was associated with severity of dyspeptic syndrome and metabolic glycemic control. **Material and method**: 100 patients with diabetes mellitus type 1 and 2 (41 men and 59 women, mean age 58.59 ani) were included in our study. Each patient completed a self-report questionnaire to obtain information concerning the presence and severity of upper gastrointestinal tract symptoms. *H. pylori* status was confirmed by serological test and histophatology study of gastric biopsy or ^{13}C-urea breath test. **Results**: Prevalence of *H. pylori* infection was found not to be significantly higher in diabetics than in controls (70% vs 73%). 49% *H. pylori* positive diabetics had type 2 insulinonecesitant diabetes mellitus, 27% had type 1 diabetes mellitus and 24% had type 2 diabetes mellitus, with no statistically significant difference ($p > 0,05$). We found no statistically significant difference in the symptoms score between *H. pylori* positive and *H. pylori* negative diabetic patients. The main value of HbA1 levels in *H. pylori* - infected diabetics was 7.31% and 7.47% in *H. pylori* non-infected diabetics, without significant difference. **Conclusion**: There was no statistically significant difference in the prevalence of *H. pylori* infection between diabetics and non-diabetics patiens and no difference in the symptoms score between *H. pylori* positive and *H. pylori* negative diabetic patients. *H. pylori* in diabetics appears no influence glycemic status.

Key words: *HELICOBACTER PYLORI*, DIABETES MELLITUS, ^{13}C-UREA BREATH TEST, DISPEPTIC SYNDROM

Diabetul zaharat şi infecţia cu *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) sunt cele mai importante cauze ale sindromului dispeptic.

Reducerea complicaţiilor cronice şi creşterea calităţii vieţii pacienţilor diabetici au un numitor comun: controlul glicemic optim. Din multitudinea cauzelor care fac dificilă echilibrarea diabetului, două ar putea fi atribuite bacteriei *H. pylori*: infecţia cronică şi modificarea evacuării gastrice.

Scopul studiului a fost evaluarea prevalenţei infecţiei *H. pylori* la un lot de pacienţi cu diabet zaharat şi stabilirea relaţiei dintre infecţia *H. pylori* cu sindromul dispeptic şi controlul glicemic la pacienţii diabetici.

MATERIAL ŞI METODĂ

Pacienţii

Lotul de studiu a fost reprezentat de 100 pacienţi consecutivi (41 bărbaţi şi 59 femei, vârsta medie 58,59 ani) cu diabet zaharat tip 1 şi tip 2 care s-au prezentat la controlul periodic în Ambulatoriul de Diabet şi Boli Nutriţie din cadrul Spitalului de Urgenţe "Sf. Spiridon" Iaşi. Au fost excluşi pacienţii cu consum recent de inhibitori de pompă de proton (IPP), antibiotice sau săruri de bismut.

Tuturor pacienţilor li s-a făcut o anamneză referitoare la durata şi tratamentul bolii, la complicaţiile cronice şi la controlul glicemic şi li s-a înmânat un chestionar de simptome dispeptice (durere epigastrică, greaţă, vărsături, saţietate precoce, meteorism postprandial, pirozis şi inapetenţă). Pentru calcularea scorului sindromului dispeptic s-a folosit următoarea scală: simptomul nu a fost prezent niciodată = 0 puncte, simptomul a fost rar şi poate fi ignorat = 1 punct, simptomul a fost ocazional şi nu a influenţat activitatea zilnică = 2 puncte, simptomul a fost frecvent şi a influenţat activitatea zilnică = 3 puncte, urmărindu-se frecvenţa simptomelor pentru ultimele 3 luni.

Lotul martor a fost reprezentat de 100 pacienţi consecutivi non-diabetici (47 bărbaţi şi 53 femei, vârsta medie 50,45 ani) consultaţi în Ambulatoriul Institutului de Gastroenterologie şi Hepatologie Iaşi. Criteriile de excludere au fost: ciroza hepatică, ulcerul peptic dovedit imagistic, consumul recent de IPP şi săruri de bismut.

Toţi pacienţii au înţeles scopul studiului şi au acceptat să participe la el.

Metode

Diagnosticul infecţiei cu *H. pylori* s-a pus prin două metode:

1. testul serologic (metodă indirectă de diagnostic), efectuat la toţi pacienţii luaţi în studiu;
2. examenul histologic al biopsiei gastrice obţinută endoscopic *sau* testul respirator cu uree marcată ^{13}C la pacienţii care nu au acceptat endoscopia digestivă superioară (metode directe de diagnostic).

Examenul histologic al pieselor de biopsie gastrică este o metodă directă invazivă de diagnosticare a infecţiei cu *H. pylori* şi presupune efectuarea endoscopiei digestive superioare cu prelevarea de biopsii gastrice antrale. Endoscopia digestivă superioară a fost acceptată de 55 pacienţi diabetici şi doar de 37 pacienţi non-diabetici.

Testul respirator cu uree marcată ^{13}C s-a efectuat la pacienţii care au refuzat examenul endoscopic digestiv superior, respectiv la 45 de pacienţi diabetici şi la 63 pacienţi non-diabetici.

Calculele statistice s-au făcut în sistemul SPSS vers.16.0, iar comparaţia dintre grupuri cu testul Chi-pătrat.

REZULTATE

Caracteristicile clinice ale loturilor de lucru sunt prezentate în tabelul I.

Lotul de diabetici a fost alcătuit din 32 pacienţi cu diabet zaharat tip 1 şi 68 pacienţi cu diabet zaharat tip 2. În ceea ce priveşte anul diagnosticării diabetului, acesta a avut ca extreme anii 1974 şi 2009, majoritatea pacienţilor fiind diagnosticaţi în anul 1999.

Testul serologic (Ac anti *H. pylori*) a fost pozitiv la 64 de pacienţi diabetici (64%) şi la 71 de pacienţi non-diabetici (71%).

Examenul histologic al pieselor de biopsie gastrică a arătat prezenţa infecţiei cu *H. pylori* la 45 (45%) pacienţi cu diabet zaharat şi la 31 (31%) pacienţi non-diabetici.

Testul respirator cu uree marcată ^{13}C a fost pozitiv la 25 pacienţi cu diabet zaharat (25%) şi la 42 pacienţi non-diabetici (42%).

TABELUL I

Caracteristicile clinice ale loturilor de lucru

	Sexul M/F	**Vârsta medie (ani)**	**Mediul de provenienţă U/R**
Lotul de studiu (100 diabetici)	41/59	58,59	80/20
Lotul martor (100 nondiabetici)	47/53	50,45	64/36

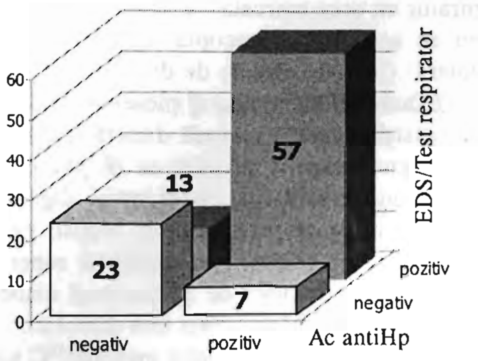


Fig. 1. Rezultatele testării directe şi indirecte a infecţiei cu *H. pylori* a pacienţilor diabetici

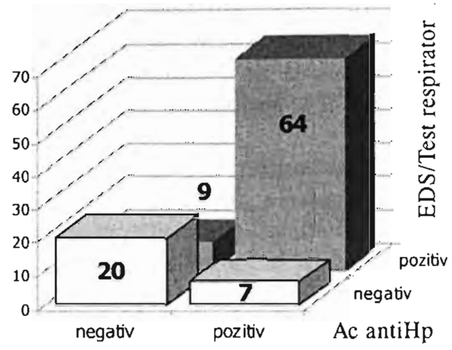


Fig. 2. Rezultatele testării directe şi indirecte a infecţiei cu *H. pylori* la pacienţii non-diabetici

Prevalenţa infecţiei cu *H. pylori* la pacienţii cu diabet zaharat

Infecţia cu *H. pylori* este prezentă dacă rezultatul la testarea directă este pozitiv şi este absentă dacă rezultatul la testarea directă şi indirectă este negativ.

Un rezultat pozitiv la testarea directă cu un rezultat negativ la testarea serologică indică fie infecţia acută (fereastra imunologică) fie un status imunosupresiv (taraţi).

Un rezultat negativ la testarea directă cu un rezultat pozitiv la testarea serologică indică fie trecerea prin infecţie (eradicarea infecţiei), fie un număr mic de colonii de *H. pylori* (de exemplu : tratament cronic cu IPP, gastrită cronică arofică, metaplazie intestinală).

Prevalenţa infecţiei cu *H. pylori* în lotul de pacienţi cu diabet zaharat a fost de 70%. La 13 diabetici rezultatul serologic a fost fals negativ. La 7 pacienţi este vorba de trecerea prin infecţie (serologie pozitivă cu test direct negativ şi absenţa gastritei la examenul histologic) (fig. 1).

În lotul martor, prevalenţa infecţiei cu *H. pylori* a fost de 73%, doar la 9 pacienţi am obţinut rezultate fals negative la testul serologic, şi tot 7 pacienţi au trecut prin infecţie (fig. 2).

Relaţia *H. pylori* şi tipul de diabet zaharat

Cei mai mulţi diabetici infectaţi cu *H. pylori* au fost de tip 2 insulinonecesitant (49%). Dintre pacienţii diabetici neinfectaţi, cei mai mulţi au fost de tip 1 (43%).

Analiza statistică folosind testul Chipătrat nu demonstrează o relaţie semnificativă între tipul de diabet şi infecţia cu *H. pylori* (p>0,05).

Relaţia sindrom dispeptic - diabet zaharat - infecţie cu *H. pylori*

Am constatat că doar 6% dintre pacienţii diabetici au avut scorul dispeptic zero (asimptomatici), restul de 94% prezentând unul sau mai multe simptome digestive, majoritatea cu o intensitate şi frecvenţă care nu afectează semnificativ calitatea vieţii. Scorurile dispeptice mai mari au fost prezente doar la pacienţii diabetici care asociază infecţia cu *H. pylori*.

Cel mai frecvent simptom înregistrat a fost pirozisul (71%), urmat de durerea epigastrică (66%) şi de greaţă şi meteorism (64%). Cel mai puţin frecvent simptom a fost inapetenţa, prezentă doar la 10% dintre subiecţi .

Analizând distribuţia de frecvenţă a scorului dispeptic înregistrat am observat că predomină scorurile moderate cuprinse între 13-15 puncte, cu o medie de 5,29 (maximul scorului dispeptic, conform scalei aplicate a fost 21).

Relaţia *H. pylori* - controlul glicemic

Controlul glicemic a fost cuantificat prin raportarea la valorile hemoglobinei glicate.

Valorile hemoglobinei glicate medii la diabeticii infectaţi cu *H. pylori* şi la cei neinfectaţi au fost 7,31% respectiv 7,47%. Analiza statistică a relaţiei *H. pylori* - hemoglobină glicată folosind testul t a arătat valori ale p nesemnificative (p>0,05).

DISCUŢII

În studiul nostru am găsit o prevalenţă a infecţiei cu *H. pylori* similară la pacienţii cu diabet zaharat şi la pacienţii non-diabetici, situată în jurul valorii de 70%. Infecţia cu *H. pylori* nu s-a corelat cu tipul diabetului, sindromul dispeptic şi controlul glicemic.

La pacienţii diabetici testul serologic a avut mai multe rezultate fals negative decât la non-diabetici.

Primele studii care au demonstrat că prevalenţa infecţiei cu *H. pylori* este superioară la diabetici faţă de non-diabetici au fost făcute de Simon et al. (1) şi publicate în 1989. Primul autor care, în urma studiilor, a considerat că diabetul zaharat trebuie considerat factor de risc pentru infecţia cu *H. pylori* a fost Quatrini (2).

Marrolo et al. (3) raportează o prevalenţă mare a infecţiei la diabetici faţă de non-diabetici. De asemenea, Oldenburg et al. (4), Gentile et al. (5), Salardi et al. (6) şi Arslan et al. (7) raportează o seroprevalenţă crescută la diabetici faţă de control.

Saluja et al. (8), în urma testării serologice şi histologice a unui lot de diabetici demonstrează o rată a infecţiei crescută la diabetici. Tot ei atrag atenţia asupra numărului mare de rezultate fals negative la testarea serologică a diabeticilor comparativ cu martorii, şi recomandă examenul histologic pentru diagnosticul infecţiei cu *H. pylori* la diabetici. Explicaţia ar consta în răspunsul imun inadecvat al diabeticilor.

Noi am observat de asemenea un număr mai mare de rezultate fals negative la testarea serologică a diabeticilor faţă de non-diabetici.

Prevalenţa crescută a infecţiei la diabetici s-ar datora : imunodeficienţei non-specifice care există la pacienţii diabetici, reducerii motilităţii gastrice la diabetici cu favorizarea colonizării antrale cu *H. pylori*, modificării mucusului gastric datorită glicozilării non-enzimatice, în condiţiile carenţei insulinice, cu favorizarea aderării *H. pylori* la epiteliul gastric, spitalizărilor frecvente la care este supus pacientul diabetic cu creşterea riscului de infecţie (9,10).

În contrast, alte studii demonstrează că infecţia cu *H. pylori* nu se asociază cu diabetul zaharat şi chiar că există o prevalenţă mai mică a infecţiei cu *H. pylori* la diabetici faţă de non-diabetici. Astfel, Malecki et al. (11) raportează o prevalenţă scăzută a infecţiei *H. pylori* la diabetici faţă de non-diabetici. Acest fapt ar putea fi explicat prin refluxul biliar gastric care există frecvent la diabetici şi care ar împiedica colonizarea gastrică cu *H. pylori* şi de existenţa microangiopatiei diabetice care poate determina scăderea colonizării gastrice de către *H. pylori* prin modificarea mucusului gastric (12). Zelenkova et al. (13) demonstreză o prevalenţă scăzută a infecţiei la diabetici iar Kojecky et al. (14) găsesc o prevalenţă foarte scăzută a infecţiei cu *H. pylori* la pacienţii cu diabet zaharat şi ulcer duodenal comparativ cu non-diabeticii.

Gasbarrini et al. (15) au găsit o prevalenţă similară a infecţiei *H. pylori* la diabetici şi non-diabetici. La acelaşi rezultat au ajuns şi Chia-Hung et al. (16), Xia HH et al. (17). Studiul efectuat în România de Stanciu et al. (18) nu găseşte, de asemenea, nici o diferenţă între rata infecţiei cu *H. pylori* la diabetici şi non-diabetici. Aceste constatări ar putea fi explicate prin dobândirea infecţiei cu *H. pylori* în copilărie, caracteristică ţărilor cu un nivel socio-economic scăzut, înaintea apariţiei diabetului zaharat. Noi am găsit o prevalenţă similară a infecţiei *H. pylori* la diabetici şi non-diabetici.

Referitor la relaţia *H. pylori* - tipul de diabet există studii care arată o rată mai mare a infecţiei la diabeticii tip1, cum ar fi cele ale lui Oldenburg et al. (4), Salardi et al. (6), Arslan et al. (7).

Senturk et al. (19), Gulcelik et al. (20) demonstrează o prevalenţă mai mare a infecţiei *H. pylori* la diabeticii de tip 2. Bener et al. (21) demonstreză o asociere semnificativă între infecţia cu *H. pylori* şi diabetul zaharat de tip 2. De asemenea, arată că infecţia cu *H. pylori* este semnificativ mai crescută la diabeticii obezi faţă de martor. Noi am găsit o frecvenţă mai mare a infecţiei la diabeticii de tip2 insulinonecesitant, dar fără semnificaţie statistică.

Salardi et al. (6), Anastasios et al. (12), Ojetti et al. (22), Xia HH et al. (17), Stanciu OG et al. (18) nu găsesc nici o diferenţă de prevalenţă a infecţiei *H. pylori* funcţie de tipul diabetului.

Am găsit o prevalenţă mare a sindromului dispeptic la pacienţii diabetici, respectiv de 94%. Prevalenţa dispepsiei în populaţia generală este de 15-50%, iar pentru diabetici este demonstrat că este crescută, depăşind incidenţa din populaţia generală, în special în cazul segmentului feminin, aşa cum arată Bytzer PM et al. (23) şi Schvarcz et al (24) în studiile lor.

Studiul pe 483 pacienţi diabetici tip 2, efectuat în Statele Unite de Ricci JA et al. (25) arată că 50% dintre pacienţi prezintă unul sau mai multe simptome digestive, comparativ cu 38% în grupul de control. Spangeus et al. (26) ajung la aceleaşi concluzii în studiul lor efectuat în Suedia.

Faptul că în lotul nostru prevalenţa sindromului dispeptic a fost crescută s-ar putea explica prin aceea că, majoritatea diabeticilor care au acceptat să participe la studiu au fost cei simptomatici, aceştia având o dorinţă mai mare pentru efectuarea unor investigaţii suplimentare în sfera digestivă.

Nici un pacient nu a prezentat un singur simptom din cele 7 luate în calcul (pirozis, durere de etaj abdominal superior, meteorism de etaj abdominal superior, saţietate precoce, greaţă, vărsături, inapetenţă), ci ele au fost asociate. Intensitatea simptomelor a fost redusă, şi s-a reflectat în scorul dispeptic care a avut o medie de 5,29, maximul fiind 21. Aceste date confirmă observaţiile din literatură, şi anume că diabetul zaharat este una din cauzele importante ale sindromului dispeptic.

Nu am găsit o diferenţă statistică a scorului dispeptic la diabeticii infectaţi cu *H. pylori* faţă de cei neinfectaţi. Datele obţinute sunt în concordanţă cu cele publicate de Marrolla et al. (3), Stanciu OG et al. (18), Kao GT et al. (27). Xia HH et al. (17) ajung la aceleaşi concluzii, şi mai mult, sugerează că infecţia cu *H. pylori* nu este răspunzătoare de sindromul dispeptic la pacienţii diabetici.

Gasbarrini et al. (28) raportează o prevalenţă mai mare a sindromului dispeptic la diabeticii infectaţi cu *H. pylori* faţă de cei neinfectaţi, şi constată că eradicarea infecţiei cu *H. pylori* atât la diabetici cât şi la non-diabetici diminuă sindromul dispeptic.

Nici unul din cele 7 simptome ale sindromului dispeptic studiate nu s-a corelat cu infecţia cu *H. pylori*, în lotul nostru de diabetici. Totuşi, pirozisul şi meteorismul de etaj abdominal superior au fost mai severe la diabeticii infectaţi cu *H. pylori* comparativ cu cei neinfectaţi.

Quatrini et al. (2) găsesc o prevalenţă crescută a esofagitei şi ulcerului peptic la diabeticii infectaţi cu *H. pylori*, simptomatici sau nu, în special dacă asociază şi neuropatie vegetativă. Ei recomandă chiar testarea diabeticilor care asociază neuropatie pentru infecţia cu *H. pylori* şi eradicarea ei.

Am găsit valori apropiate ale hemoglobinei glicate la diabeticii infectaţi cu *H. pylori* şi la cei neinfectaţi, sugerând că infecţia cu *H. pylori* nu influneţează controlul glicemic.

Lotul nostru de studiu s-a caracterizat printr-un control glicemic bun (hemoglobina glicată medie 7,36%). Este de subliniat faptul că la diabeticii infectaţi cu *H. pylori*, valoarea medie a hemoglobinei glicate a fost mai mică decât cea a diabeticilor neinfectaţi, respectiv 7,31% faţă de 7,47%, şi mai mică decât valoarea medie a hemoglobinei glicate pentru tot lotul.

Relaţia *H. pylori* – controlul glicemic al diabetului este însă controversată.

Ugwu et al. (29), într-un studiu efectuat pe diabeticii nigerieni, demonstrează că infecţia cu *H. pylori* influenţează statusul glicemic al diabeticului, printr-un mecanism necunoscut. Ei găsesc valori ale glicemiei pe nemâncate semnificativ mai scăzute la diabeticii care asociază infecţia cu *H. pylori* faţă de cei neinfectaţi. La aceleaşi concluzii ajung şi Peach şi Barnnet (30), care demonstrează că la femeile diabetice infectate cu *H. pylori* valorile glicemiilor pe nemâncate sunt mai mici decât a femeilor neinfectate cu *H. pylori*. O explicaţie dată de Acbay et al. (31) ar fi aceea că infecţia cu *H. pylori*, prin leziunile de gastrită produse, stimulează secreţia de gastrină, care, la rândul ei, creşte secreţia de insulină postprandial şi modifică evacuarea gastrică.

Wu et al. (32) emit ipoteza conform căreia, absenţa infecţiei cu *H. pylori* în copilărie creşte riscul obezităţii morbide, şi deci a diabetului zaharat, bazându-se pe studiile lor care demonstrează o relaţie inversă între obezitatea morbidă şi infecţia cu *H. pylori*.

Din contra, Dursun et al. (33) demonstrează că la adulţii tineri non-obezi, infecţia cu *H. pylori* nu influenţează secreţia de insulină şi metabolismul glucidic.

Begue RE et al. (34), într-un studiu din 1999 demonstrează că la copiii cu diabet zaharat tip 1 şi infecţie cu *H. pylori* necesarul zilnic de insulină este mai mare decât la copiii neinfectaţi. Toporowska- Kowalska et al.(35), într-un studiu recent arată că infecţia cu *H. pylori* la copiii şi adolescenţii tineri cu diabet zaharat tip 1 determină dificultăţi în controlul metabolic al bolii, iar eradicarea infecţiei nu influenţează nivelul hemoglobinei glicate. Rodolfo et al. (36) arată că eradicarea infecţiei cu *H. pylori* la copiii cu diabet zaharat tip 1 îmbunătăţeşte controlul glicemic. Yamagata et al. (37) demonstrează că hiperglicemia este un posibil cofactor de risc pentru contactarea infecţiei cu *H. pylori*.

CONCLUZII

1. Prevalenţa infecţiei cu *H. pylori* la pacienţii diabetici nu diferă faţă de non-diabetici.
2. Diagnosticul infecţiei cu *H. pylori* doar prin testare serologică nu este recomandat.
3. Infecţia cu *H. pylori* nu se corelează cu tipul diabetului.
4. Simptomele digestive la pacienţii diabetici nu se corelează cu infecţia cu *H. pylori*.
5. Infecţia cu *H. pylori* nu influenţează controlul glicemic la pacienţii diabetici.

BIBLIOGRAFIE

1. Simon L, Tornoczky J et al. The significance of Compylobacter pylori infection in gastroenterologic and diabetic practice. *Orvosi Hetilap* 1989 ; 130 : 1325-1329.
2. Quatrini M, Boarino V et al. Helicobacter pylori prevalence in patients with diabetes and its relationship to dyspeptic symptoms. *J Clin Gastroenterol* 2001 ; 32 (3) : 215-217.
3. Marrollo M, Latella G et al. Increased prevalence of Helicobacter pylori in patients with diabetes mellitus. *Dig Liver Dis* 2001 ; 33 : 21-29.
4. Oldenburg B, Diepersloot RJA et al. High seroprevalence of Helicobacter pylori infection in diabetics mellitus patients. *Dig Dis Sci* 1996 ; 41 : 458-461.
5. Gentile S, Turco S et al. The role autonomic neuropathy as a risk factor of Helicobacter pylori infection in dyspeptic patients with types 2 diabetes mellitus. *Diab Res Clin Pract* 1998 ; 42 : 41-48.

6. Salardi S, Cacciari E et al. Helicobacter pylori and type 1 diabetes mellitus in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999 ; 28 : 307-309.
7. Arslan D, Kendirci et al. Helicobacter pylori infection in children with insulin dependent diabetes mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2000 ; 13 : 553-556.
8. Saluja JG, Ajinkya M et al. Helicobacter pylori and diabetes mellitus. www.bhj.org/journal/2002.../org_26.htm
9. Schuberts s, Heesemann J. Infections in diabetes mellitus. *Imun Infekt* 1995 ; 23 : 200-204.
10. Fille TM Jr, Tan JS. Infectious complications in diabetic patients. *Curr Ther Endocrinol Metab* 1997 ; 6 : 491-495.
11. Malecki M, Bien Al et al. The prevalence of Helicobacter pylori infection and types of gastritisbin diabetic patients. The Krakow Study. *Exp Clin End Diabetics* 1996 ; 104 : 365-369.
12. Anastasios R, Goritsas C et al. Helicobacter pylori infection in diabetic patients : prevalence and endoscopic findings. *Eur J Intern Med* 2002 ; 13 : 376-381.
13. Zelenkova J, Souckova N et al. Helicobacter pylori and diabetes mellitus. *Cas Lek Cesk* 2002 ; 141 : 575-577.
14. Kojecky V, Roubalik J et al. Helicobacter pylori in patients with diabetes mellitus. *Vintr Lek* 1993 ; 39 : 581-584.
15. Gasbarrini A, Ojetti V et al. Helicobacter pylori infection in patients affected by insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1998 ; 10 : 469-472.
16. Chia-Hung K, Dao Y et al. The relationship between Helicobacter pylori infection and gastric emptying in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Eur J Nucl Med* 1995 ; 22 : 122-125.
17. Xia HH, Talley NJ et al. Helicobacter pylori infection is not associated with diabetes mellitus, nor with upper gastrointestinal symptoms in diabetes mellitus. *Am J Gastroenterology* 2001 ; 96 : 4.
18. Stanciu OG, Trifan A et al. Helicobacter pylori infection in patients with diabetes mellitus. *Rev Med Chir Soc Med Nat* 2003 ; 107 : 59-65.
19. Senturk O, Canturk Z et al. Prevalence and comparisons of five different diagnostic methods for Helicobacter pylori in diabetic patients. *Endocr Res* 2001 ; 27 : 179-189.
20. Gulcelik NE, Kaya E et al. Helicobacter pylori prevalence in diabetic patients and its relationship with dyspepsia and autonomic neuropathy. *J Endocrinol Invest* 2005 ; 28 : 214-217.
21. Bener A, Micallef R et al. Association between type 2 diabetes mellitus and Helicobacter pylori infection. *Turk J Gastroenterol* 2007 ; 18 (4) : 225-229.
22. Ojetti V, Pitocco D et al. Helicobacter pylori infection in insulin-dependent diabetes mellitus. *Minerva Med* 2001 ; 92 : 137-144.
23. Bytzer PM, Talley NJ et al. Diabetes mellitus is associated with increased prevalence of gastrointestinal symptoms : a population -based study of 15,000 adults. *Arch Int Med* 2001 ; 86 : 5836-5837.
24. Schvarcz E, Palmer M et al. Increased prevalence of upper gastrointestinal symptoms in long term type I diabetes mellitus. *Diab Med* 1995 ; 13 : 478-481.
25. Ricci JA , Siddique R et al. Upper gastrointestinal symptoms in a US national sample of adults with diabetes. *Scand J Gastroenterol* 2000 ; 35 : 152-159.
26. Spangeus A, El-Salhy M et al. Prevalence of gastrointestinal symptoms in young and middle-aged diabetic patients. *Scand J Gastroenterol* 1994 ; 34 : 1196-2002.
27. Kao GT, Chan WB et al. Gastrointestinal symptoms in Chinese patients with type 2 diabetes melittus. *Diabet Med* 1999 ; 16 : 670-674.
28. Gasbarrini A, Ojetti V et al. Insulin -dependent diabetes mellitus affects rate of Helicobacter pylori infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999 ; 11 : 713-716.
29. Ugwu NC, Ugwuja EI. Helicobacter pylori in uninvestigated dyspepsia in primary cares in Abakaliki, Nigeria. *J Health Allied Sci* 2007 ; 1 : 4.
30. Peach HG, Barnett NE. Helicobacter pylori infection and fasting plasmaglucose concentration. *J Clin Pathol* 2001 ; 54 : 466 -469.
31. Acbay O, Celik AF, Gundogdu S. Does Helicobacter pylori-induced gastritis enhances food-stimulated insulin release ? *Dig Dis Sci* 1996 ; 41 : 1327-1331.

32. Wu MS, Lee WJ et al. A case-controlled study of association of Helicobacter pylori infection with morbid obesity in Taiwan. *Arch Intern Med* 2005 ; 165 : 1552-1555.
33. Dursun M, Bahceci M et al. Insulin sensitivity, ? cell function and serum lipid levels in Helicobacter pylori positive, non-obese, young adult males. *Turk J Med Sci* 2004 ; 34 : 103-107.
34. Begue RE, Mirza A et al. Helicobacter pylori infection and insulin requirement among children with type 1 diabetes mellitus. *Pediatrics* 1999 ; 103 : 83.
35. Toporowska-Kowalska E, Wasowska-Królikowska K, Szadkowska A, Bodalski J. Helicobacter pylori infection and its metabolic consequences in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Med Wieku Rozwoj* 2007 ; 11 (2 Pt 1) : 103-108.
36. Rodolfo E, Ricordo G et al. Effect of helicobacter pylori eradication in the glycemia of children with type 1 diabetes. *South Med J* 2002 ; 95 (8) :
37. Yamagata H, Kiyohara Y, Nakamura S et al. Impact of fasting plasma glucose levels on gastric cancer incidence in a general Japanese population (The Hisayama Study). *Diabetes Care* 2005 ; 28 : 789-794.

NOUTĂŢI

UTILIZAREA METODELOR DE BIOLOGIE MOLECULARĂ ÎN DETECŢIA RAPIDĂ A TULPINILOR DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* CU REZISTENŢA EXTINSĂ LA MEDICAMENTE ANTITUBERCULOASE

Tuberculoza este una dintre cele mai grave infecţii la nivel mondial determinând anual două milioane de decese. Detectarea rapidă a tulpinilor rezistente la medicaţia antituberculoasă este esenţială în stabilirea unor scheme de tratament care nu numai că salvează viaţa pacientului dar previn şi răspândirea acestor tulpini în populaţia generală. Deşi metodele moleculare au fost folosite cu succes pentru detectarea rapidă a rezistenţei la medicamentele antituberculoase de primă linie (multidrog rezistenta, MDR) exista puţine date despre mutaţiile care conferă rezistenţa şi la antituberculoase de linia a doua (XDR, rezistenţă şi la toate flourochinolonele şi la cel putin unul din drogurile injectabile de a doua linie : amikacina, capreomicina, kanamicina). Un grup de cercetători de la Centrul Naţional de Referinţă pentru *Mycobacterium* din Borstel, Germania, a arătat prin metode de secvenţializare a ADN că există o corespondenţă între mutaţii ale unor gene ţintă şi fenotipul XDR. Ei au analizat prin PCR un lot de tulpini de *Mycobacterium tuberculosis* rezistente la ofloxacina şi respectiv un lot cu rezistenţă la capreomicina şi/sau amikacină în paralel cu tulpini martor sensibile la aceste antibiotice. Rezultatele au arătat că mutaţii în special ale genei *gyrA* (codonii 94, 90 si 91) şi cu frecvenţa mai mică ale genei *gyrB* (codonii 485 si 543) corespund rezistenţei la ofloxacina, în timp ce mutaţii ale genei *rrs* A1401G induc rezistenţa simultană la capreomicină şi amikacină. Mutaţia genei *tlyA* (codonii 18, 118) răspunde de rezistenţa numai la capreomicina. Niciuna din tulpinile de control, cu sensibilitate la antituberculoase de linia a doua nu a manifestat mutaţii. Analiza secvenţială a unor regiuni scurte ale genelor : *gyrA, gyrB, rrs* şi *tlyA* a arătat o sensibilitate înaltă şi o specificitate mare pentru detectarea rezistenţei la antituberculoase de linia a doua. Acest lucru permite dezvoltarea unor metode de analiza PCR rapide pentru detecţia tulpinilor XDR atât în cazurile noi de tuberculoză cât şi la pacienţi anterior trataţi (Feuerriegel S, Cox H, Zurkua N et al. Sequence analyses of just four genes to detect extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains in multidrug-resistant tuberculosis patients undergoing treatment. *Antimicrob Agents Chemother* 2009 ; 53 : 3353-3356).

Cătălina Luncă

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE **ARTICOLE ORIGINALE**

PREVALENŢA INFECŢIEI CU *HELICOBACTER PYLORI* ÎN CIROZA HEPATICĂ COMPLICATĂ CU ENCEFALOPATIE

L. Săndulache, C. Stanciu
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
Institutul de Gastroenterologie şi Hepatologie Iaşi

PREVALENCE OF *HELICOBACTER PYLORI* IN LIVER CIRRHOSIS COMPLICATED WITH HEPATIC ENCEPHALOPATHY (Abstract): Hepatic encephalopathy (HE) is a frequent complication of liver cirrhosis, and plasma ammonia plays a pivotal role in its pathogenesis. *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) urease activity is a potential source of ammonia in the stomach of patients with cirrhosis and may contribute to hyperammonemia in these patients, but conflicting data are available in the literature. The aim of our study was to evaluate the prevalence of *H. pylori* infection in cirrhotic patients with HE admitted in a tertiary medical center from nord-eastern region of Romania. **Results**: seroprevalence of *H. pylori* infection in cirrhotic patients with HE did not significantly differ from cirrhotic patients without HE (51.61% *vs.* 48.39%). Clinical and biochemical parameters were almost similar between patients with HE *H. pylori*-positive and those *H. pylori*-negative. **Conclusions**: the prevalence of *H. pylori* infection in cirrhotic patients with HE is almost similar to that found in patients with liver cirrhosis without HE. Our results suggest that *H. pylori* infection is not an independent risk factor for HE in cirrhotic patients. **Key words**: CIRRHOSIS, *HELICOBACTER PYLORI*, HEPATIC ENCEPHALOPATHY

Encefalopatia hepatică (EH) este o complicaţie frecventă şi severă, conducând adesea la deces, la pacienţii cu ciroză hepatică. Tratamentul EH este dificil, rezultatele acestuia fiind de multe ori nesatisfăcătoare. Patogeneza EH nu este pe deplin elucidată în ciuda numeroaselor studii efectuate. Principalul rol patogenic este artibuit amoniacului, argumentele serioase în favoarea acestei ipoteze fiind prezenţa hiperamoniemiei la majoritatea pacienţilor cu EH şi reducerea amoniemiei prin tratament adecvat (1,2). În ultimii ani, mai multe studii au demonstrat că stomacul poate reprezenta o sursă importantă de amoniu în prezenţa infecţiei cu *H. pylori* (3). Mai mult, infecţia cu *H. pylori* la pacienţii cu ciroză hepatică ar determina creşterea concentraţiei plasmatice de amoniu şi secundar, ar juca un rol important în inducerea EH (4). Alte studii (5,6,7,8,9) au arătat că eradicarea infecţiei cu *H. pylori* la pacienţii cu ciroză hepatică determină reducerea hiperamoniemiei şi ameliorarea simptomatologiei EH. Totuşi, studiile existente în această privinţă sunt eterogene, cu rezultate deseori contradictorii (5,10,11,12,13,14,15).

Scopul studiului nostru a fost stabilirea prevalenţei infecţiei cu *H. pylori* la pacienţii cirotici cu EH internaţi într-o unitate medială terţiară din nord-estul României.

MATERIAL ŞI METODE

Studiul a inclus 31 pacienţi cu ciroză hepatică complicată cu EH, internaţi la Institutul de Gastroenterologie şi Hepatologie Iaşi în perioada Februarie 2006 - Mai 2009. Diagnosticul de ciroză hepatică a fost stabilit pe baza examenului clinic şi al investigaţiilor paraclinice (examen biochimic, ultrasonografic, endoscopic şi radiologic). Caracteristicile clinice ale pacienţilor sunt prezentate în tabelul I.

Nu au fost incluşi în studiu pacienţii cu EH severă (grad III sau IV), cei cu tulburări severe cardiace, pulmonare sau renale, cei cu hemoragie gastrointestinală activă sau pacienţii aflaţi în tratament de eradicare a infecţiei cu *H. pylori*. Toţi pacienţii au primit un regim alimentar restrictiv în sare şi aport de proteine (20-30 g/zi). Lactuloza a fost administrată la toţi pacienţii în doză individualizată, suficientă pentru a asigura 2-3 scaune/zi. De asemenea, toţi pacienţii au primit i.v. soluţii de aminoacizi pentru a corecta tulburarea plasmatică şi antibiotice (Rifaximin) pe cale orală cu scopul reducerii producţiei şi absorbţiei de amoniu. Pacienţii au fost evaluaţi pentru prezenţa/absenţa infecţiei cu *H. pylori*, disfuncţia hepatică (clasificarea Child-Pugh) şi gradul EH. Stadiul (gradul) EH a fost stabilit pe baza caracteristicilor clinice care au inclus evaluarea stării mentale (dezorientare, tulburări de comportament şi modificări de personalitate) şi tulburările somnului (inversarea ritmului, insomnie, somnolenţă în timpul zilei).

TABELUL I

Caracteristicile clinice ale pacienţilor cu encefalopatie hepatică

Pacienţi (număr)	31
Sex (număr)	
• bărbaţi	17
• femei	14
Vârsta (ani)	
• media	49,8±12,6
• limita	32-69
Etiologia cirozei (număr)	
• virală B	8
• virală C	16
• toxică	7
Clasa Child-Pugh (număr)	
• A	4
• B	16
• C	11
Stadializarea encefalopatiei	
• Stadiul I	9
• Stadiul II	22

Infecţia cu H. pylori a fost cercetată prin metoda serologică care utilizează dozarea anticorpilor anti-*H. pylori* în ser.

Lotul martor a fost constituit din pacienţi cu ciroză hepatică fără EH, internaţi în aceeaşi perioadă sau în evidenţa Institutului de Gastroenterologie şi Hepatologie Iaşi, selectaţi prin metoda perechilor în funcţie de vârstă, sex, etiologia şi severitatea cirozei (clasa Child Pugh), astfel încât diferenţa cu lotul de studiu nu este semnificativă statistic (tab. II).

Analiza statistică a fost efectuată utilizând testul *t* Student, valoarea $p < 0,05$ fiind considerată semnificativă statistic.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Infecţia cu *H. pylori* a fost diagnosticată prin metoda serologică la 16 pacienţi (51,61%) cu ciroză hepatică complicată cu EH. Caracteristicele clinice şi biochimice ale pacienţilor cirotici cu EH asociată sau nu infecţiei cu *H. pylori* sunt prezentate în tabelul III. Diferenţa dintre numărul de pacienţi cu ciroză hepatică şi encefalopatie *H. pylori*-pozitivi şi cei *H. pylori*-negativi este nesemnificativă din punct de vedere statistic ($p > 0,05$).

Prevalenţa infecţiei cu *H. pylori* la pacienţii cu ciroză hepatică complicată cu EH nu a fost semnificativ diferită de cea întâlnită la ciroticii fără encefalopatie din lotul martor ($p < 0,05$) (tab. IV).

EH este un sindrom neuropsihic cu patogeneză multifactorială care apare relativ frecvent în evoluţia cirozei hepatice; este o complicaţie severă, conducând adesea la decesul pacienţilor.

Mecanismele implicate în instalarea EH nu sunt pe deplin elucidate, în ciuda numeroaselor studii efectuate. Principalul rol patogenic este atribuit amoniacului, argumentele serioase în favoarea acestei ipoteze fiind

TABELUL II

Repartiţia pacienţilor în lotul de studiu şi lotul martor

Parametri clinici	Pacienţi cu ciroză hepatică şi encefalopatie	Pacienţi cu ciroză hepatică (martori)
Număr	31	29
Vârstă medie (ani)	49,8±12,6	51,2±10,4
Sex (bărbaţi/femei)	17/14	17/12
Etiologia cirozei		
virală B	8	6
virală C	16	14
toxică	7	9
Clasa Child-Pugh		
A	4	5
B	16	12
C	11	12

TABELUL III

Caracteristicele clinice şi biochimice ale pacienţilor cu encefalopatie hepatică *H. pylori*-pozitiv şi *H. pylori*-negativ

Parametri clinici şi biochimici	Ciroză hepatică cu encefalopatie hepatică *H. pylori* (+)	Ciroză hepatică cu encefalopatie hepatică *H. pylori* (-)
Număr pacienţi	16	15
Vârstă (ani)	48,5±11,2	51,2±12,2
Sex 1. bărbaţi 2. femei	 9 7	 8 7
Clasa Child-Pugh 1. A 2. B 3. C	 2 9 6	 2 7 5
Etiologia cirozei • virus B • virus C • toxică (alcool)	 4 9 3	 4 7 4
Albumina serică (g/dL)	28,4±0,8	29,1±0,6
Bilirubina serică totală (mg/dL)	2,4±1,3	2,1±1,6
TGP	52,6±18,2	49,2±22,1
Nr. trombocite ($10^3/mm^3$)	118±36	122±41
Timp protrombină	16,1±2.9	15,9±2,2

TABELUL IV

Prevalenţa infecţiei cu *Helicobacter pylori* la pacienţii cu ciroză cu/fără encefalopatie hepatică

Status *H. pylori*	Pacienţi cu ciroză hepatică şi encefalopatie (număr,%)	Pacienţi cu ciroză hepatică fără encefalopatie (număr,%)
H. pylori +	16 (51,61%)	15 (51,72%)
H. pylori -	15 (48,39%)	14 (48,28%)

prezenţa hiperamoniemiei la majoritatea pacienţilor cu EH şi reducerea amoniemiei prin tratament adecvat.

În ultimii ani, numeroase studii au demonstrat că stomacul poate reprezenta o sursă importantă de amoniu în prezenţa infecţiei cu *H. pylori* (3) ca urmare a activităţii ureazei caracteristice acestei bacterii. Infecţia cu *H. pylori* produce amoniu la nivel gastric, dar acesta este imediat metabolizat în condiţiile unui ficat normal; în condiţiile unei disfuncţii hepatice majore, aşa cum este cazul cirozei hepatice, amoniul produs la nivelul stomacului şi absorbit în sânge va determina creşterea amoniemiei. În ansamblu, studiile privitoare la relaţia dintre infecţia cu *H. pylori* la pacienţii cu ciroză hepatică sunt eterogene, cu rezultate contradictorii, atât în ceea ce priveşte prevalenţa infecţiei, cât şi efectul său asupra nivelului amoniemiei, inclusiv după tratamentul de eradicare (10,11,12).

În studiul nostru, prevalenţa infecţiei cu *H. pylori* la pacienţii cu ciroză hepatică complicată cu EH nu a diferit semnificativ faţă de grupul de pacienţi cirotici cu EH fără infecţie cu *H. pylori* (51,61% vs 48,39%). Mai mult, nu am constatat diferenţe semnificative din punct de vedere statistic privind prevalenţa infecţiei cu *H. pylori* între pacienţii cu ciroză hepatică complicată cu EH şi pacienţii cirotici fără encefalopatie care au constituit lotul martor. Rezultatele noastre nu confirmă datele din unele studii publicate anterior (8,16,17,18) care au raportat că EH este semnificativ mai frecventă la pacienţii cirotici cu infecţie *H. pylori* decât la cei fără infecţie *H. pylori*. Astfel, Gubbins et al. (3) au raportat o prevalenţă a infecţiei semnificativ mai ridicată la pacienţii cu ciroză alcoolică complicată cu EH (78,6%) decât la cei fără EH (62%). Rezultate similare au publicat şi alţi autori (8,19,20,2122).

Pe de altă parte, prevalenţa infecţiei cu *H. pylori* la pacienţii cu ciroză complicată cu EH din studiul nostru se înscrie în limitele celei raportate în populaţia generală din regiunea de nord-est a României. La noi în ţară, rezultatele noastre confirmă pe cele din studiul publicat de Preda et al. (23) care au constatat o prevalenţă a infecţiei cu *H. pylori* la pacienţii cu ciroză hepatică de 44,4%, care nu a diferit semnificativ faţă de grupul de control (42%); autorii menţionaţi nu au constatat diferenţe semnificative pentru rata de infecţie în funcţie de etiologia cirozei şi nici de severitatea (scorul Child) bolii; în schimb, infecţia cu *H. pylori* s-a corelat cu prezenţa encefalopatiei hepatice (rata infecţiei de 66,7%). De asemenea, studiul nostru confirmă rezultatele publicate în alte cercetări din alte zone geografice. Astfel, Miquel et al. (13) au raportat o prevalenţă a infecţiei cu *H. pylori* la pacienţii cu ciroză hepatică şi encefalopatie hepatică subclinică de 59%, aproape similară celei întâlnite la populaţia generală din regiumea respectivă, iar Vasconez et al. (24) şi mai recent Rekha et al. (25) raportează diferenţe nesemnificative ale infecţiei cu *H. pylori* la pacienţii cu ciroză hepatică faţă de lotul martor. Alte studii constată chiar o prevalenţă mai scăzută a infecţiei cu *H. pylori* (20%-50%) la pacienţii cu ciroză hepatică complicată cu EH decât la ciroticii fără encefalopatie (6,17,24-28).

CONCLUZIE

Studiul nostru demonstrează că prevalenţa infecţiei cu *H. pylori* la pacienţii cu ciroză hepatică complicată cu EH nu diferă semnificativ faţă de pacienţii cirotici fără encefalopatie. În plus, nu s-au constatat diferenţe semnificative ale parametrilor clinici şi biochimici între pacienţii cu encefalopatie hepatică *H. pylori*-pozitiv şi cei *H. pylori*-negativ, ceea ce sugerează că infecţia cu *H. pylori* nu reprezintă un factor de risc pentru inducerea EH la pacienţii cu ciroză hepatică.

BIBLIOGRAFIE

1. Voorhies TM, Ehrlich ME, Duffy TE et al. Acute hyperammonemia in the young primate: physiologic and neuropathology correlates. *Pediatr Res* 1983; 17: 970-975.
2. Blei AT, Otafsson S, Themen G et al. Ammonia-induced brain edema and intracranial hypertension in rats after portacaval anastomosis. *Hepatol* 1994; 19: 1437-1444.

3. Gubbins GP, Moritz TE, Marsano LS et al. *H. pylori* is a risk factor for hepatic encephalopathy in acute alcoholic hepatitis: the ammonia hypothesis revisited. *Am J Gastroenterol* 1993; 11: 1906-1910.
4. Al-Kareemy EAR, Zakhary MM. *Helicobacter pylori*: is it a risk factor for hepatic encephalopathy in cirrhotic patients? *Gut* 1996; 39: A121.
5. Zullo A, Hassan C, Morini S. Hepatic encephalopathy and *Helicobacter pylori*: a critical reappraisal. *J Clin Gastroenterol* 2003; 37: 164-168.
6. Shimamoto C, Hirata I, Katsu K. Breath and blood ammonia in liver cirrhosis. *Hepatogastroenterol* 2000; 47: 443-445.
7. Lee OJ, Lee EJ, Kim HJ. Correlations among gastric juice pH and ammonia, *Helicobacter pylori* infection and gastric mucosal histology. *Korean J Intern Med* 2004; 19: 205-212.
8. Abdel-Hady H, Zaki A, Badra G et al. *Helicobacter pylori* infection in hepatic encephalopathy: Relationship to plasma endotoxins and blood ammonia. *Hepatol Res* 2007; 37: 1026-1033.
9. Yang CS, Cao SY, He XJ et al. Study of correlation between *H. pylori* infection and hyperammonemia and hepatic encephalopathy in cirrhotic patients. *Chinese Crit Care Med* 2007; 19: 422-424.
10. Kirchner GI, Wagner S, Schmidt H et al. Pathogenic role of *Helicobacter pylori* infection in chronic liver disease. *Gastroenterol* 1996; 110: A157.
11. Quero JC. Hartmann IJ et al. Hyperammonaemia and *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1995; 346: 713-714.
12. Plevris JN, Morgensiern R, Hayes PC et al. Hyperammonaemia in cirrhosis and *Helicobacter pylori* infection. *Lancet* 1995; 346: 124-125.
13. Miquel J, Barcena R, Boixeda D et al. Role of *Helicobacter pylori* infection and its eradication in patients with subclinical hepatic encephalopathy. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13: 1067-1072.
14. DuBois S, Eng S, Bhattacharya R et al. Breath ammonia testing for diagnosis of hepatic encephalopathy. *Dig Dis Sci* 2005; 50: 1780-1784.
15. Calvet X, Nogueras C, Roqué M et al. *Helicobacter pylori* is not a risk factor for hepatic encephalopathy. *Dig Liver Dis* 2001; 33: 414-419.
16. Chen SJ, Wang LJ, Zhu Q et al. Effect of *H. pylori* infection and its eradication on hyperammonemia and hepatic encephalopathy in cirrhotic patients. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1914-1918.
17. Scotiniotis IA, Lucey MR, Metz DC. *Helicobacter pylori* infection is not associated with subclinical hepatic encephalopathy in stable cirrhotic patients. *Dig Dis Sci* 2001; 46: 2744-2751.
18. Zullo A, Rinaldi V, Meddi P et al. *Helicobacter pylori* infection, plasma ammonia levels, and psychometric testing in cirrhotic patients. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2214-2218.
19. Sethar GH, Ahmed R, Zuberi BF et al. Frequency of *Helicobacter pylori* antibodies in portosystemic encephalopathy. *JCPSP* 2004; 14 (9): 530-533.
20. Tsai CJ. *Helicobacter pylori* infection and peptic ulcer disease in cirrhosis. *Dig Dis Sci* 1998; 43: 1219-1225.
21. Xu C, Jiang X. Relationship between *Helicobacter pylori* and cirrhosis of liver. *Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao* 1998; 23: 382-384.
22. Qureshi H, Ahmed W, Qazi J et al. *Helicobacter pylori* in portal hypertension. *J Pak Med Assoc* 1993; 43: 249.
23. Preda C, Becheanu G, Berghi O et al. Caracteristicile infecţiei cu *Helicobacter pylori* la pacienţii cu ciroză hepatică. *Gastro.ro* 2007; 6: Diagnostic.
24. Vasconez C, Elizalde I, Llach J et al. *Helicobacter pylori*, hyperammonemia and sublclinical portosystemic encephalopathy: effects of eradication. *J Hepatol* 1999; 30: 260-264.
25. Rekha C, Phanidhar MS, Sagar AV et al. Role of *Helicobacter pylori* and hyperammonemia in subclinical hepatic encephalopathy in cirrhosis of liver. *Indian J Clin Biochem* 2007; 22: 136-139.
26. Chang C, Kao C, Yeh H et al. *Helicobacter pylori* infection and gastric emptying in cirrhotic patients with symptoms of dyspepsia. *Hepatogastroenterol* 1999; 46: 3166-3171.
27. Zullo A, Rinaldi V, Meddi P et al. *Helicobacter pylori* infection in dyspeptic cirrhotic patients. *Hepatogastroenterol* 1999; 46: 395-400.
28. Dong L, Zhang Z, Fang P et al. Portal hypertensive gastropathy and its interrelated factors. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2003; 2: 226-229.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi – 2009 – vol. 113, nr. 4

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE **ARTICOLE ORIGINALE**

CONTAMINAREA CU AFLATOXINE A ALIMENTELOR – FACTOR SUPLIMENTAR DE RISC PENTRU PATOLOGIA HEPATICĂ CRONICĂ

C. Huţanaşu[1], C. Sfarti[1], Anca Trifan[1], Mihaela Huţanaşu[2], C. Stanciu[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Institutul de Gastroenterologie şi Hepatologie
Spitalul Clinic Judeţean de Urgenţă "Sf. Spiridon" Iaşi
2. Clinica de Diabet, Nutriţie şi Boli Metabolice

AFLATOXIN CONTAMINATION OF FOOD: ADDITIONAL RISK FACTOR FOR CHRONIC LIVER DISEASES (Abstract): Aflatoxins are over all spread toxic metabolites of fungi, able to induce chronic liver damages. **Aim**: To establish the correlation between the degree of liver disease and risk of chronic intake of aflatoxin contaminated foods. **Material and method**: 123 patients divided in three groups (controls, chronic hepatitis and liver cirrhosis) completed a food frequency questionaire (FFQ) estimating the intake risk of foods with a high potential of contamination with aflatoxins and alcohol consumption. **Results**: Frequent intake of high risk foodstuff was declared by 37% of the participants, without any differences between the three groups. Foods with a very high risk of contamination were more frequently consumed in rural areas (predominant maize and oily seeds), while in the urban areas spices and coffee prevailed. In countryside, the feeding risk decreased with the gravity of liver disease, but alcohol consumption was significantly greater. **Conclusion**: FFQ revealed a high risk of ingestion of aflatoxin contaminated foodstuff in general population, greater in rural areas. The risk of aflatoxin intake seems unreleated with the gravity of chronic liver disease. **Key words**: AFLATOXIN, CONTAMINATED FOODSTUFF, FOOD FREQUENCY QUESTIONAIR, LIVER CIRRHOSIS

Aflatoxinele sunt produşi toxici de metabolism ai fungilor din genul *Aspergillus* care contaminează invariabil stocurile de alimente, singura posibilitate de control a efectelor fiind limitarea concentraţiei prin măsuri generale nespecifice (1). Alimentele posibil contaminate sunt foarte diverse, multe dintre ele constituind elemente de bază în regimul alimentar (carnea, lactatele, cerealele), dar riscul de contaminare este variabil (2,3). Pentru vegetale precum fructele oleaginoase, condimentele, cafeaua, fructele uscate, porumbul – contaminarea este directă, de regulă masivă, în timp ce pentru lactate, carne, ouă contaminarea este indirectă, cu metaboliţi ai micotoxinelor produşi în organismul animal care a ingerat vegetale contaminate (1,2,4).

Scopul principal al studiului a fost evaluarea corelaţiei între gradul de afectare hepatică şi gradul consumului alimentelor cu risc major de contaminare cu aflatoxine. Ca scop secundar, s-a urmărit stabilirea unui profil de risc pentru populaţie în funcţie de mediul de provenienţă.

MATERIAL ŞI METODĂ

În studiu au fost incluşi 123 de pacienţi (69 femei, 54 bărbaţi; 66 din mediul rural, 57 din mediul urban) proveniţi din 3 circumscripţii (1 urban, 2 rural) de medicină de familie din judeţul Iaşi. Participanţii au fost distribuiţi în 3 loturi: control - 36 subiecţi (29,26%); hepatită cronică (HC) - 36 de pacienţi (29,26%) şi ciroză hepatică (CH) - 51 pacienţi (41,46%). Chestionarul de frecvenţă alimentară (CFA) a conţinut 25 de întrebări de tip complement simplu cu 6 variante de răspuns. Alimentele au fost divizate în 2 grupe: cu contaminare directă (risc mare) - fructe oleaginoase, porumb şi derivate, cafea, condimente; cu contaminare indirectă (risc mediu) - lactate, carne, ouă. Variantele de răspuns *a*, *b* şi *c* au arătat un consum frecvent, zilnic sau la 2 zile al alimentului respectiv, în timp ce răspunsurile *d*, *e* şi *f* au arătat un consum rar, de cel mult odată pe săptămână. Completarea chestionarului s-a făcut de participant şi a fost precedată de explicarea cerinţelor şi a modului de completare. Analiza statistică a rezultatelor s-a făcut într-o bază de date alcătuită în Microsoft Office Excel 2003, calculându-se valoarea χ^2 pentru loturile comparate.

REZULTATE

La nivelul întregului lot de studiu, se constată un grad important de consum al alimentelor cu risc, peste 37% dintre participanţi declarând un consum frecvent, zilnic sau la cel mult 2 zile, fără diferenţe semnificative determinate de mediul de provenienţă (37,5% rural, 38,2% urban; p >0,05) sau de gradul afectării hepatice (33,7% la martor, 35,87% la pacienţii cu HC, 40% la bolnavii cu CH; p>0,05). Frecvenţa consumului alimentelor cu risc maxim de contaminare a fost de 17,42% la control, 18,18% la HC şi 16,58% la CH (p>0,05). Diferenţe semnificative există între cele 2 medii de provenienţă, consumul frecvent de alimente cu risc maxim fiind declarat de 25,45% din participanţii din mediul rural faţă de 15,38% - pentru urban (p<0,01). Fig. 1 şi fig. 2 redau evoluţia gradului de consum a alimentelor cu risc în cele 2 medii, în funcţie de severitatea afectării hepatice.

Rezultatele indică un consum mai mare de porumb şi fructe oleaginoase în mediul rural, în timp ce în mediul urban predomină consumul de cafea şi condimente, diferenţele fiind înalt semnificative statistic (tab. I).

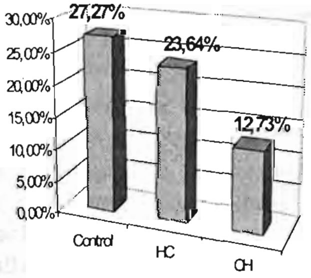


Fig. 1. Consumul de alimente cu risc major de contaminare în mediul rura

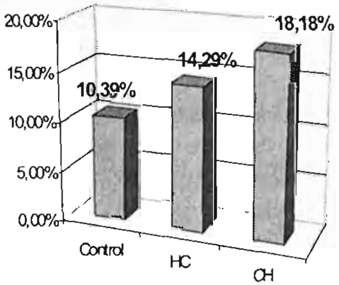


Fig. 2. Consumul de alimente cu risc major de contaminare în mediul urban

TABELUL I

Semnificaţia statistică a rezultatelor obţinute pentru consumul de alimente cu risc maxim de contaminare

Aliment	Rural (%)	Urban (%)	Valoarea $\chi 2$	Semnificaţie statistică
Porumb	57,14	42,86	27,59	*p<0,01*
Cafea	42,76	57,26	31,27	*p<0,01*
Condimente	38,03	61,97	40,88	*p<0,001*
Fructe oleaginoase	61,11	38,89	19,68	*p<0,01*

Frecvenţa declarată a consumului de băuturi alcoolice creşte progresiv odată cu gradul afectării hepatice, de la 33% la control, la 50% la participanţii cu HC şi este semnificativ mai mare la pacienţii cu CH faţă de lotul martor (64%) (fig. 3).

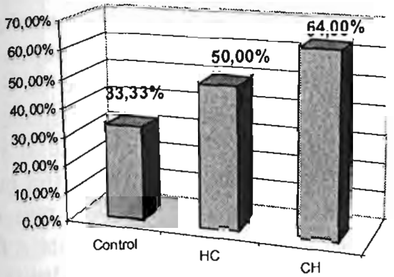


Fig. 3. Frecvenţa consumului de alcool

Frecvenţa consumului de alcool în mediul rural a fost de 38,1%, faţă de 61,9% în mediul urban, diferenţa fiind semnificativă statistic (tab. II).

DISCUŢII

Contaminarea alimentelor cu micotoxine este o realitate care trebuie avută în vedere. În Occident se raportează nivele alarmante de contaminare a produselor lactate cu aflatoxine: Portugalia - 39%, Franţa - 65 %, Italia - peste 80 % (5). În China, există zone unde probele de porumb sunt contaminate cu aflatoxină B1 (AFB1), ceea ce creşte semnificativ riscul de carcinom hepatocelular (6). Studii efectuate în Estul Europei plasează ţara noastră între zonele cu risc major de intoxicaţie cu micotoxine (7). Acest lucru este confirmat de publicarea recentă a unor date care arată prezenţa micotoxinelor în produse de larg consum recoltate de pe piaţa locală (8). Mai mult, există evidenţe directe ale prezenţei aflatoxinelor pure în sângele unor pacienţi cu boală hepatică cronică, deşi se cunoaşte că timpul lor de înjumătăţire în organism este de 48 de ore, fapt care confirmă existenţa unui proces de intoxicaţie cronică (9,10).

Dintre rezultatele obţinute, se remarcă procentul mare de participanţi (peste 37%) care au introdus printre alimentele cel mai frecvent consumate pe cele cu risc mediu şi mare de contaminare. Acest lucru aduce un plus de importanţă problemei evaluării pe scară largă a gradului de contaminare a alimentelor cu aflatoxine şi a efectului acestora asupra stării de sănătate a populaţiei. Absenţa diferenţelor notabile între mediul urban şi cel rural reflectă starea socio-economică actuală, în care nu mai există diferenţe majore între stilul de alimentaţie din cele două medii.

TABELUL II

Semnificaţia statistică a rezultatelor obţinute pentru consumul de alcool

Loturi comparate	Valoare $\chi 2$	Semnificaţie statistică
Control/HC	1,23	p>0,05
Control/CH	13,86	*p<0,05*
HC/CH	2,52	p>0,05
Urban/Rural	15,92	*p<0,05*

Cu toate acestea, se constată un profil de risc diferit al populaţiei din mediul rural faţă de cea din mediul urban, consumul frecvent de alimente cu risc maxim fiind declarat de 25,4% din participanţii din mediul rural faţă de 15% pentru urban. Consumul mai mare de alimente posibil contaminate în mediul rural comparativ cu mediul urban corespunde cu datele din literatură, cunoscută fiind asocierea dintre intoxicaţia cu aflatoxine şi condiţiile socio-economice deficitare (10,11). Dacă consumul mult mai frecvent de porumb şi derivate în mediul rural este de aşteptat (mălaiul încă este un aliment de bază în gospodăriile româneşti), surprinzător este consumul semnificativ mai mare de fructe şi legume oleaginoase, deoarece accesul la cele mai multe dintre acestea este mult mai facil celor care locuiesc în mediul urban. Aşa cum era de aşteptat, consumul de cafea este semnificativ mai mare în mediul urban decât la sate. De asemenea, condimentele posibil contaminate, care provin integral din import, par a fi mai utilizate la oraş decât la sat - în principal datorită folosirii cu precădere în ultimul caz a zarzavaturilor şi plantelor aromatice de producţie proprie. Aceste particularităţi ale expunerii la aflatoxine sunt demne de luat în seamă, deoarece pot sta la baza unor programe de profilaxie a intoxicaţiei cronice la nivel populaţional.

Frecvenţa de consum a alimentelor cu risc major este similară la cele trei grupe de participanţi la studiu, deşi frecvenţa consumului de alimente posibil contaminate creşte în paralel cu gradul afectării. Aceasta sugerează o reducere a spectrului de alimente consumate cu creşterea frecvenţei de consum a unui singur grup de alimente (posibil contaminate). După datele din studiul nostru, acest grup pare a fi reprezentat de lactate – alimente comune preferate mai degrabă de cei cu afectare hepatică (CH mai mult decât HC), dar pentru care contaminarea cu micotoxine a fost frecvent demonstrată (11,12). Absenţa diferenţelor notabile în consumul de alimente cu risc mare de contaminare între sănătoşi şi bolnavi este un indicator al faptului că aflatoxinele nu reprezintă singurul factor implicat în patologia hepatică cronică.

Un aspect neaşteptat care rezultă din analiza datelor obţinute prin CFA îl reprezintă scăderea progresivă în mediul rural a consumului de alimente cu risc major de contaminare cu aflatoxine odată cu creşterea gravităţii afectării hepatice, în timp ce în mediul urban situaţia este invers. O explicaţie a acestui fenomen o constituie posibilităţile mult mai reduse din mediul rural de a varia conţinutul dietei (13), ţinând cont şi de raţiunile economice. Deoarece la completarea chestionarului pacienţilor li s-a cerut să ţină cont de stilul de alimentaţie din ultimele 6 luni, este de presupus că acest efect este indus de dieta pe care au fost sfătuiţi să o adopte. Se poate spune că diagnosticului de CH i se atribuie o mai mare importanţă în mediul rural, astfel încât modificările stilului de viaţă sunt mai importante. În general, pacienţii la care a fost pus diagnosticul de CH sunt sfătuiţi să adopte un regim alimentar bazat pe fructe şi legume proaspete, lactate şi cereale, cu excluderea alimentelor conservate şi alcoolului. Rezultatele sugerează că la pacienţii din mediul rural, din ideea de „regim alimentar" face parte excluderea cafelei, al cărei consum este semnificativ mai mic, însă nu şi renunţarea la alcool, al cărui consum este semnificativ crescut la pacienţii cu CH faţă de lotul de control. Conform datelor din literatură, nivelul consumului de alcool este invers proporţional cu statusul socio-economic (11), rezultatele indicând şi în acest caz faptul că alcoolul este un factor de risc important pentru boala hepatică cronică.

CONCLUZII

Riscul de intoxicaţie cronică cu aflatoxine în populaţia studiată este mare, datorită consumului frecvent de alimente cu risc de contaminare.

Nu există o corelaţie între riscul ingestiei şi gradul afectării hepatice.

Consumul alimentelor cu risc maxim de contaminare cu aflatoxine este mai mare în mediul rural, cu un profil de risc diferit faţă de mediul urban.

BIBLIOGRAFIE

1. Bennett J, Klich M. Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev* 2003 ; 3 : 497–516.
2. Mankevièienë A, Gaurilèikienë I, Dabkevièius Z, Semadkienë R, Maèkinaitë R, Supronienë S. Mycotoxin contamination of Lithuanian-grown cereal grains and factors determining it. *Ekologija* 2006 ; 3 : 21–27.

3. Eaton DL, Groopman JJ editors. *The Toxicity of Aflatoxins. Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance*. San Diego, Academic Press, 1994.
4. Richard JL. Mycotoxins : risks in plant, animal and human systems. *Task Force Report* 139, 2003.
5. Martins HM, Mendes-Guerra MM, d'Almeida-Bernardo FM. Occurrence of aflatoxin B1 in dairy cow feed over 10 years in Portugal (1995-2004). *Rev Iberoam Micol* 2007 ; 24 (1) : 69-71.
6. Li F-Q, Yoshizawa T, Kawamura S, Luo SY, Li YW. Aflatoxins and fumonisins in corn from the high-incidence area for human hepatocellular carcinoma in Guangxi, China. *J Agric Food Chem* 2001 ; 49 : 4122-4126.
7. Galvano F, Piva A, Ritieni A, Galvano G. Dietary strategies to counteract the effects of mycotoxins : a review. *J Food Prot* 2001 ; 64 (1) : 120-131.
8. Bulea D, Şpac A, Dorneanu V. Determinarea Ochratoxinei A din cafea boabe prin metoda HPLC. *Fungi & Mycotoxins* 2008 ; 2 (1) : 157-163.
9. Huţănaşu C, Sfarti C, Trifan A et al. Detectarea micotoxinelor hepatotoxice la pacienţii cu ciroză hepatică. *Rev Med Chir Soc Med Nat* 2009 ; 113 (1) ; 59-64.
10. Ross RK, Yuan JM, Yu MC et al. Urinary aflatoxin biomarkers and risk of hepatocellular carcinoma. *Lancet* 1992 ; 339 : 1413-1414.
11. Sabbioni G, Sepai O. Determination of human exposure to aflatoxins. In : Sinha KK, Bhatnagar K editors. *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety*. New York : Marcel Dekker Inc., 1994, 183-226.
12. Van Egmond HP. Aflatoxin M1 : occurrence, toxicity, regulation. In : Van Egmond HP editor. *Mycotoxins in Dairy Products*. London : Elsevier Applied Sciences, 1989 ; 11-55.
13. Graur M, Mihai B, Botnariu G et al. *Ghid pentru alimentaţia sănătoasă*. Iaşi : Ed. Performantica, 2006 ; 100-101.

NOUTĂŢI

RADIOTERAPIA STEREOTAXICĂ ÎN TRATAMENTUL CANCERULUI PULMONAR

Radioterapia stereotaxică (CyberKnife), tehnică utilizată de mai mulţi ani în tratamentul metastazelor cerebrale, a fost practicată de o echipă din Pittsburg în cazul a 21 de pacienţi ce prezentau cancer pulmonar în stadiul I (cu leziuni periferice în 10 cazuri şi centrale în 11 cazuri), ce prezentau contraindicaţii operatorii absolute (risc cardiac, funcţie respiratorie deteriorată, alte afecţiuni grave asociate) sau care au refuzat intervenţia chirurgicală. A fost administrată o doză unică de 20 Gy a cărui efect biologic se estimează a fi echivalent cu o iradiere clasică de 60 Gy. Unul din doi pacienţi a prezentat pneumotorax la plasarea clipsurilor de reper (sub control TDM), necesitând drenaj. După 3 luni un pacient a decedat prin pneumopatie, în 3 cazuri tumora a progresat, în 5 cazuri tumora a fost stabilizată, iar 12 pacienţi au răspuns la tratament (7 complet şi 5 parţial). Durata medie de urmărire a fost de 24 de luni, perioadă în care 2 pacienţi au decedat, iar 9 au prezentat un progres al tumorii. Rezultatele raportate sunt superioare celor obţinute prin iradiere convenţională. Studii recente au demonstrat că este posibilă administrarea unei doze mai mari (până la un echivalent biologic de 100 Gy), cu rezultate bune după 2 ani, dar cu o morbiditate şi o mortalitate crescute mai ales pentru tumorile centrale. Reperajul electromagnetic ar putea fi utilizat pentru implantarea clipsurilor cu un risc mai mic de pneumotorax (Pennathur A et al. Stereotactic radiosurgery for the treatment of stage I non-small cell lung cancer in high-risk patients. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2009 ; 137 : 597-604).

Al.D. Ciochină

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE

ARTICOLE ORIGINALE

CERCETĂRI PENTRU EVIDENŢIEREA UNOR CARACTERISTICI ALE MANIFESTĂRILOR CLINICE ÎN GASTRITELE (GASTROPATIILE) PRODUSE DE CONSUMUL ÎN EXCES DE ALCOOL. OBSERVAŢII PE UN LOT DE 117 PACIENŢI ASISTAŢI ÎN SPITALUL DOROHOI

S. Gherasim[1,2], Mihaela Dranga[2], Cătălina Mihai[2], Cristina Cijevschi Prelipcean[2]
Spitalul Municipal Dorohoi
1. Secţia Medicină internă
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
2. Institutul de Gastroenterologie şi Hepatologie Iaşi

STUDY ON POST-ALCOHOL CONSUMPTION GASTRITIS CLINICAL CHARACTERISTICS. ASSESSMENT ON A GROUP OF 117 PATIENTS FROM DOROHOI HOSPITAL (Abstract) : The aim of the study was to assess the symptoms manifested in patients with gastritis (gastropathies) due to excessive alcohol consumption. **Material and method** : The study sample consisted of 117 cases admitted in the Town Hospital Dorohoi, Botoşani County, between 2002-2006. **Results** : Data were collected using special epidemiological questionnaires and statistical records of the hospital and Public Health Office. Anamnesis, clinical examination, following by endoscopy and histological and radiological examination completed the diagnosis. Although interventions regarding prevention methods were permanently applied, their efficiency was suboptimal for most of the patients suffering from chronic gastritis and excessive alcohol consumption. **Key words** : GASTRITIS, ALCOHOL CONSUMPTION, CLINICAL MANIFESTATION, PREVENTION

Conceptul de „gastrită" a cunoscut, de-a lungul timpului, revizuiri succesive. Într-o primă etapă pentru stabilirea diagnosticului, s-au avut în vedere criteriile anatomopatologice, apoi au urmat perioade în care a dominat examenul radiologic şi endoscopic. În prezent, fibroscopia asigură posibilitatea biopsiilor ţintite, multiple, care reprezintă o explorare completă ce depistează leziunile inflamatorii sau atrofice. În această etapă, informaţiile radiologice, endoscopice şi clinice se constituie în indici importanţi care ajută la stabilirea diagnosticului (1,2,3,4,5).

Alcoolul poate determina hemoragii submucoase şi eroziuni, mai ales după consumul acut, în concentraţie şi cantitate mare. Ca agent liposolubil, alcoolul afectează membrana celulelor epiteliale de suprafaţă, determinând necroze şi eroziuni, retrodifuzia ionilor de hidrogen şi perpetuarea leziunilor. Gastrita de natură alcoolică se situează a doua, după cea produsă de consumul de AINS, în cadrul tuturor formelor de gastrită (gastropatii) (6,7,8).

MATERIAL ŞI METODE

În perioada analizată (2002-2006), lotul de studiu a inclus 117 pacienţi cu gastrită (gastropatie), internaţi în Spitalul Municipal Dorohoi şi care aveau ca element comun un consum excesiv (cronic) de alcool. La acest factor de agresiune gastrică, s-au asociat adesea şi consumuri excesive de medicamente (frecvent aspirină), alimentaţie deficitară calitativ etc.

Informaţiile au fost culese prin evaluarea foilor de observaţie, a fişelor de anchetă special structurate şi rapoartele statistice ale spitalului şi DSP a Judeţului Botoşani. Prelucrarea şi interpretarea informaţiilor s-au realizat prin metode epidemiologice (fişa de anchetă, incidenţa, prevalenţa, reprezentări grafice) şi statistico-matematice (p, tendinţa, regresia liniară).

REZULTATE ŞI DISCUŢII

1. *Unele caracteristici clinice ale pacienţilor cu gastrită, incluşi în studiu.* Bolnavii incluşi în lot au prezentat gastrită (gastropatie) alcoolică, cu manifestări clinice nespecifice : greţuri, dureri epigastrice, gust neplăcut, plenitudine, inapetenţă, disconfort digestiv. Concomitent, am evidenţiat şi existenţa unor manifestări specifice, care, coroborate cu anamneza, au fost prezente în special în gastritele (gastropatiile) de natură alcoolică, cele mai importante fiind : dureri în epigastru cu caracter de greutate şi uneori manifestări colicative, vărsături care de mult ori ameliorează durerea, pirozis intermitent ; inapetenţă progresivă, calmată uneori de ingestia de alcool, cefalee difuză, uşoară agitaţie psihomotorie ; tulburări de tranzit intestinal, diaree intermitentă, anorexie moderată, pierdere ponderală medie ; sete, uneori bolnavul ingerând cantităţi mici şi repetate de apă (fig. 1, 2, 3, 4).

2. *Aspecte ale diagnosticului de gastrită alcoolică stabilit prin examen clinic şi paraclinic.* De primă importanţă a fost *anamneza* bolnavului, care uneori s-a realizat cu dificultate, deoarece o parte dintre bolnavi nu declarau cu exactitate consumul, iar alţii nu recunoşteau natura consumului de alcool.

O altă categorie de bolnavi prezenta un aspect general care facilita punerea diagnosticului încă de la intrarea în cabinet, pentru consultaţie, când manifestau stare de agitaţie şi tremurături ale membrelor superioare şi inferioare, care relevau consumul cronic de alcool. De asemenea, *examenul clinic* a evidenţiat prezenţa unei dureri epigastrice cu caracter de greutate, colici abdominale cu localizare superioară, pirozis intermitent, vărsături, inapetenţă progresivă, pierdere ponderală, sete imperioasă, simptome care, uneori, se ameliorau urmare a ingestiei de alcool.

În multe cazuri, bolnavii au prezentat şi

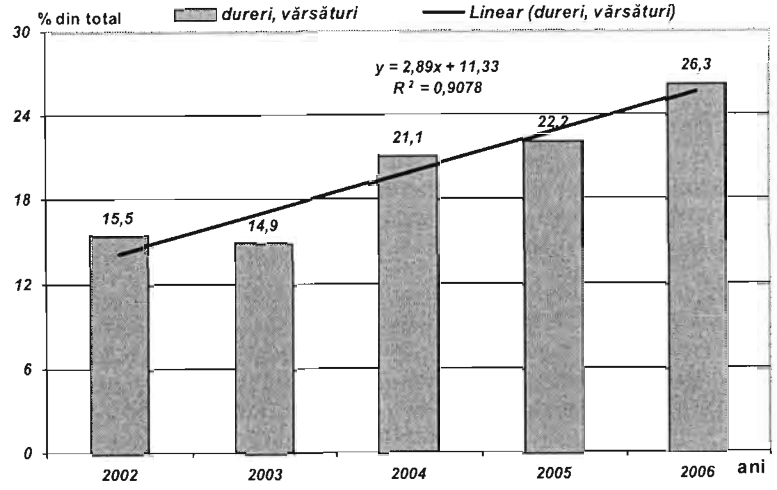


Fig. 1. Distribuţia pacienţilor cu gastrită manifestată prin dureri în epigastru cu caracter de greutate, iar uneori colicative, vărsături urmate de ameliorarea durerii, pirozis intermitent

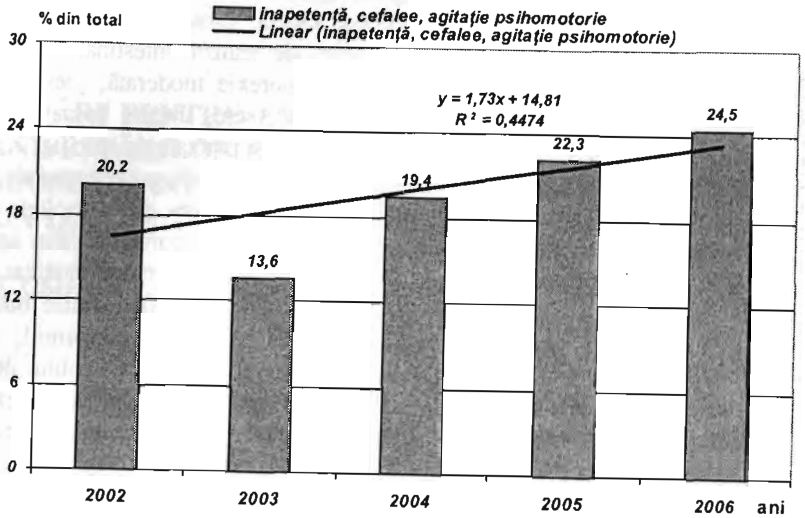


Fig. 2. Distribuţia pacienţilor cu gastrită manifestată prin inapetenţa progresivă calmată uneori de ingestia de alcool, cefalee difuză şi uşoară agitaţie psihomotorie

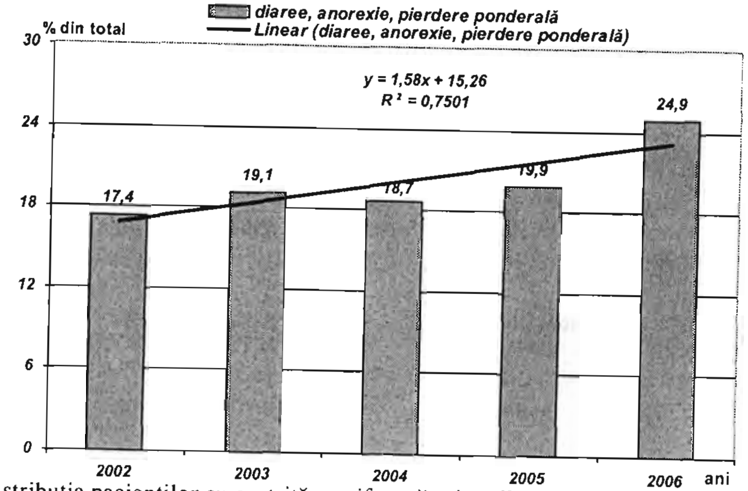


Fig. 3. Distribuţia pacienţilor cu gastrită manifestată prin tulburări de tranzit intestinal cu diaree intermitentă, anorexie moderată şi pierdere ponderală medie

manifestări clinice din partea ficatului şi, uneori, neurologice, de tip convulsionant şi chiar simptome de pancreatită severă. În cazul unor pacienţi cu vârstă medie, s-au semnalat şi forme de pancreatită uşoară, neglijate, sau durerile epigastrice se datorau stazei hepatice sau insuficienţei cardiace, în cadrul unei cardiomiopatii dilatative.

Examenul endoscopic a evidenţiat rezultate variabile şi necaracteristice, uneori mucoasa gastrică avea aspect normal, dar, în cele mai multe cazuri, a fost prezent un edem moderat şi hemoragii mici diseminate.

Examenul histologic a arătat vasodilataţie, edem, hemoragii, număr redus de celule inflamatorii, iar cel *radiologic* a stabilit prezenţa edemului mucoasei gastrice.

CONCLUZII

Bolnavii din lotul studiat au provenit din diferite medii sociale, care au acceptat de la început să declare că sunt consumatori de băuturi alcoolice. Mulţi considerau consumul de alcool ca un element benefic, astfel că efortul personalului medical de a-i convinge de nocivitatea pe care o produce acest obicei a rămas fără înţelegere, iar, după ameliorarea episodului gastric acut, pacienţii şi-au reluat obiceiul. Pe lângă manifestările gastrice nespecifice, la pacienţii luaţi în studiu s-au constatat şi manifestări constant întâlnite la gastritele de natură alcoolică (inapetenţa progresivă, tulburări de tranzit intestinal, sete permanentă, manifestări epigastrice dureroase calmate de ingestia de alcool). Diagnosticul de gastrită (gastropatie) alcoolică a fost stabilit pe baza datelor din anamneză, examenul clinic, radiologic, endoscopic şi cel de laborator. Deşi intervenţiile educaţionale au avut caracter de permanenţă, atât în ambulator, cât şi pe durata spitalizării, eficienţa acestora, pe termen lung, s-a dovedit a fi suboptimală pentru majoritatea pacienţilor consumatori, în exces, de alcool şi cu gastrită cronică.

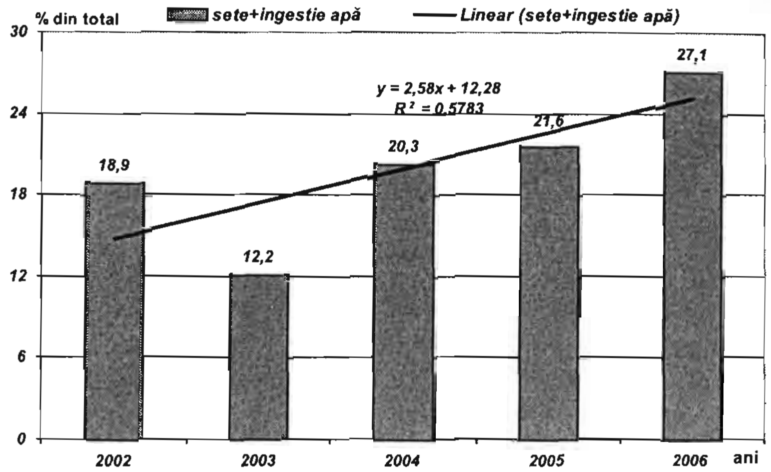


Fig. 4. Distribuţia pacienţilor cu gastrită manifestată prin sete urmată de ingestia unor cantităţi mici şi repetate de apă

BIBLIOGRAFIE

1. Yardley JH, Hendrix TR. Gastritis, duodenitis and associated ulcerative lesions. In: Yamada T, Alpers DH, Owyang C, Powel DW, Silverstein FE editors. *Textbook of Gastroenterology*. Philadelphia: JB Lippincott Co., 1995, 1456-93.
2. Ashton-Key M, Diss TC, Isaacson PG. Detection of *H. pylori* in gastric biopsy and resection specimens. *J Clin Pathol* 1996; 49: 107-111;
3. Bloomfield K, Ahlström S et al. *Alcohol Consumption and Alcohol Problems Among Women in European Countries. A European Union Biomed - II Concerted Action*. Berlin, Institute for Medical Informatics, Biostatistics and Epidemiology, Free University Berlin, 1999.
4. Constantinescu D, Manea M, Ene F. *Incursiuni în problematica alcoolismului*. Bucureşti: Ed. Tehnică, 2001.
5. Stanciu C, Trifan A, Mihailovici S, Cojocariu C. Endoscopic diagnosis of *Helicobacter pylori* in patients with bleeding peptic ulcers. *Rev Med Chir Soc Med Nat* 2007; 111 (1): 57-64.
6. Sipponen P, Marshall BJ. Gastritis and gastric cancer. Western countries. *Gastroenterol Clin N Am* 2000; 29 (3): 579-592.
7. Malfertheiner P, Megrand F, O'Morain C et al. Current European concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht Consensus Report. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1997; 9: 1-2.
8. Lieber CS. Medical disorders of alcoholism. *New Engl J Med* 1995; 16 (333): 1058-1065.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi – 2009 – vol. 113, nr. 4

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE

ARTICOLE ORIGINALE

EVALUĂRI CLINICO-EPIDEMIOLOGICE ASUPRA INCIDENŢEI UNOR BOLI CRONICE DE RINICHI, ÎNREGISTRATE ÎN ROMÂNIA ŞI JUDEŢUL IAŞI, ÎN PERIOADA 2004-2008

V. Cepoi, A. Covic, Carmen Volovăţ
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
Spitalul Clinic "C. I. Parhon" Iaşi
Clinica de Nefrologie

CLINICAL EPIDEMIOLOGICAL ASSESSMENTS REGARDING THE INCIDENCE OF SOME KIDNEY DISEASES REGISTERED IN ROMANIA AND IASI COUNTY, BETWEEN 2004-2008 (Abstract): Authors present the results of a study carried out in Iaşi County and Romania, comparatively, between 2004-2008, in order to know the incidence of the main chronic kidney diseases (CKDs) (nephritic syndrome and nephrosis, chronic renal failure, kidney and urinary lithiasis) and those with a major role in their etiology (essential arterial hypertension - EAHT and diabetes mellitus - DM). **Results**: The distribution of cases at the county and national level was assessed both for CKDs and EAHT and DM, respectively, by area, sex and age groups. Clinical epidemiological research highlighted high values of CKDs incidence, taking into account a defficiency in standardized data collecting, processing, and interpretation to allow a database useful for elaboration and implementation of prevention programmes.

Key words: CHRONIC KIDNEY DISEASE, RENAL FUNCTION, SCREENING, PREVALENCE

Boala cronică de rinichi (BCR), cu răspândire populaţională, cu valori de incidenţă şi prevalenţă de nivel ridicat, datorită etiologiei multifactoriale şi polimorfismului clinic şi epidemiologic, este subraportată, insuficient ancorată în programe preventionale, având grave implicaţii medicale şi socio-economice, care afectează puternic viaţa individului, familiei şi societăţii (1,2,3,4).

Între multiplele definiri, BCR este cel mai adesea considerată a fi o afecţiune renală gravă, marcată de o rată de filtrare glomerulară de <60 mL/min/1,73 m^2, pentru o durată de peste 3 luni de zile şi cu includerea unor anomalii reno-urinare (5,6). Insuficienta cunoaştere a epidemiologiei BCR şi, îndeosebi a factorilor de risc, este urmarea absenţei unor programe naţionale şi locoregionale, de supraveghere şi screening epidemiologic, cu implicarea medicilor de familie, a clinicienilor de profiluri variate, a epidemiologilor şi infecţioniştilor (7,8,9,10).

O astfel de orientare ar contribui la fructificarea, cu beneficii medicale şi socio-economice, a ceea ce ar putea aduce prevenţia primară pentru identificarea şi neutralizarea factorilor de risc şi depistarea în stadiile incipiente a BCR.

Importanţa depistării active a BCR aflată în "stadiul 0" care reprezintă momentul propice intervenţiilor pentru prevenţia primară, nu constituie încă obiectivul declarat al asistenţei medicale primare şi, cu atât mai puţin, pentru specialiştii implicaţi în intervenţiile de prevenţie secundară (11).

Criteriile Wilson şi Junger (12) adoptate de OMS în urmă cu peste 40 de ani, aduc importante dovezi care atestă necesitatea unui program de screening util în dezvoltarea acţiunilor pentru prevenţia primară.

În lucrarea de faţă, se încearcă a se prezenta unele argumente care să susţină necesitatea elaborării şi aplicării programelor de prevenţie primară a BCR şi în aria noastră geografică.

MATERIAL ŞI METODE

Studiul clinico-epidemiologic a fost realizat în perioada 2004-2008, cu scopul cunoaşterii incidenţei principalelor afecţiuni cronice ale rinichiului (sindromul nefritic cronic şi nefroza, insuficienţa renală cronică, litiaza rinichiului şi a căilor urinare) şi a unor factori cu rol major în a le determina (hipertensiunea arterială şi diabetul zaharat).

Materialul de studiu, de nivel naţional, a fost obţinut de la Centrul de Calcul şi Statistică Sanitară a M.S., iar pentru judeţul Iaşi, s-a acumulat pe baza evaluărilor realizate de cele 421 cabinete ale medicilor de familie, urmat de prelucrarea şi sistematizarea la nivelul Direcţiei de Sănătate Publică a judeţului Iaşi, utilizându-se metodologia epidemiologică şi statistico-matematică.

Pentru evidenţierea particularităţilor clinico-epidemiologice, s-a procedat la efectuarea unor evaluări comparative, a informaţiilor disponibile la nivelul judeţului şi cele naţionale.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

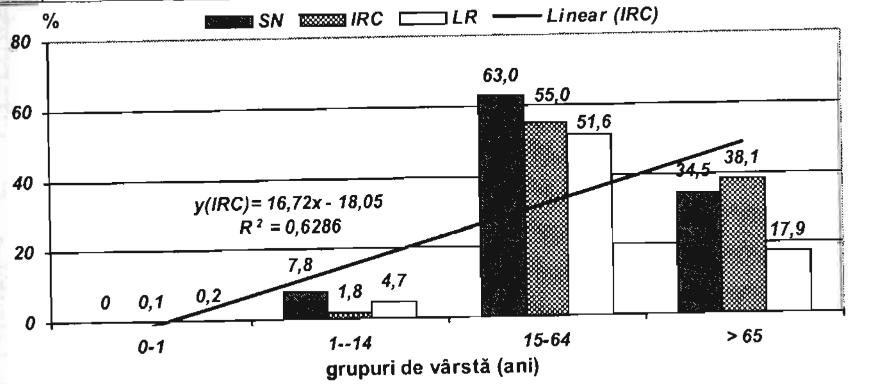
1. Distribuţia pe medii, sex şi grupuri de vârstă a valorilor incidenţei a patru boli cronice ale aparatului renal. În perioada celor 5 ani luaţi în studiu, în Judeţul Iaşi, au fost înregistrate, în 421 cabinete ale medicului de familie, 116 cazuri de sindrom nefritic cronic şi nefroză; 808 cu insuficienţă renală cronică şi 14.879 cu litiaza rinichiului şi a căilor urinare.

Repartiţia pe medii a fost semnificativ mai ridicată pentru urban ($p<0,05$) şi, respectiv, sexul feminin, cu excepţia litiazei

TABELUL I

Valorile incidenţei, analizate cumulativ, pentru cele trei categorii de afecţiuni cronice renale, înregistrate în Judeţul Iaşi, în perioada 2004-2008

	Afecţiunea	Urban (%)	Rural (%)	Masculin (%)	Feminin (%)
Total cumulativ 2004-2008	Sindrom nefritic cronic şi nefroză	73,2	57,7	43,1	72,4
	Insuficienţă renală cronică	66,3	33,6	36,2	63,7
	Litiaza rinichiului şi căilor urinare	58,4	41,5	41,5	58,4



SN=sindrom nefritic cronic şi nefroză; IRC=insuficienţă renală cronică; LR=litiaza rinichiului şi căilor urinare

Fig. 1. Repartiţia pe grupuri de vârstă (ani) a incidenţei cumulative

pentru care incidenţa a avut valori aproximativ egale în urban (58,4%) şi, respectiv, sexul feminin (58,5%) (tab. I).

De asemenea, cu valori cumulative pentru perioada luată în studiu, *repartiţia pe grupuri de vârstă* a evidenţiat o predominanţă a valorilor de incidenţă, semnificativ mai crescute ($p<0,05$) la grupurile de vârstă 15-64 ani, urmate de ≥65 ani, pentru cele trei BCR. Situaţia este explicată prin asocierea mai multor factori de risc (infecţioşi, metabolici, genetici) ale căror efecte asupra aparatului renal se intensifică prin caracterul lor cumulativ, pe măsura înaintării în vârstă (fig. 1).

2. Distribuţia la nivel naţional a valorilor de incidenţă pentru cinci afecţiuni cronice ale aparatului urinar, pe medii, sex şi grupuri de vârstă. Între afecţiunile cronice ale aparatului urinar, sindromul nefritic cronic, sindromul nefrotic, nefrita tubulo-interstiţială cronică, litiaza rinichiului, ureterului şi a căilor urinare inferioare, au înregistrat, comparativ, pentru anul 2007 şi 2008, la nivel naţional, diferenţe cu semnificaţie redusă ($p>0,05$), atât pentru mediul de origine, cât şi pentru sex. În schimb, datele cumulative pentru toate cele cinci afecţiuni, au indicat faptul că grupurile de vârstă cele mai afectate au fost 15-64 ani, cu uşoară diferenţă între cei doi ani luaţi în studiu (62,8% - 2007 şi 57,3% - 2008), urmată de ≥65 ani, pentru care diferenţa anuală a fost nesemnificativă ($p>0,05$) (tab. II, III).

3. Incidenţa cazurilor de hipertensiune arterială esenţială, pe medii şi sex, în România şi judeţul Iaşi. În anii 2007 şi 2008, la nivel naţional, hipertensiunea arterială esenţială (HTAE) a înregistrat 234.393 cazuri în 2007 şi 229.352, în 2008, cu diferenţe nesemnificative ($p>0,05$) pe medii şi între cei doi ani, situaţie similară cu cea a repartiţiei pe sex, dar cu o diferenţă uşor semnificativă în favoarea mediului urban, atât pentru bărbaţi, cât şi pentru femei ($p<0,05$).

TABELUL II

Distribuţia valorilor de incidenţă a cinci afecţiuni cronice ale aparatului urinar, pe medii şi sex, în România, în anii 2007 şi 2008

Afecţiunea	Sex (%)							
	Masculin				Feminin			
	Urban		Rural		Urban		Rural	
	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008
Sindrom nefritic cronic	38,7	21,7	13,7	19,1	30,5	28,4	17,0	30,7
Sindrom nefrotic	32,4	29,8	23,7	24,8	23,5	26,3	20,3	19,0
Nefrită tubulo-interstiţială cronică	26,5	19,3	21,8	22,0	22,6	26,5	29,0	48,9
Litiaza rinichiului şi ureterului	35,7	31,1	19,7	28,3	25,6	26,2	18,7	18,7
Litiaza căilor urinare inferioare	32,8	30,6	19,5	20,3	26,1	26,6	21,4	22,4
Total	34,4	30,3	19,0	22,7	25,8	26,4	20,0	21,2

TABELUL III

Incidenţa pe grupuri de vârstă a cinci afecţiuni cronice ale aparatului urinar, în România, în anii 2007 şi 2008

Afecţiunea	Grupuri de vârstă (ani) (%)							
	< 1		1-14		15-64		≥ 65	
	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008
Sindrom nefritic cronic	2,5	2,0	5,4	1,0	65,6	0,1	26,3	36,3
Sindrom nefrotic	5,2	13,2	2,4	19,7	60,0	20,2	31,1	46,9
Nefrită tubulo-interstiţială cronică	6,4	6,3	3,9	6,9	56,6	43,3	33,0	45,1
Litiaza rinichiului şi ureterului	2,4	5,6	1,6	2,9	63,0	55,1	32,9	39,8
Litiaza căilor urinare inferioare	2,2	3,4	1,13,4	3,4	63,1	67,1	33,5	26,0
Total	**2,5**	**2,8**	**1,6**	**3,3**	**62,8**	**57,3**	**33,0**	**35,7**

Repartiţia pe grupurile de vârstă a evidenţiat valori ale incidenţei deosebit de ridicate pentru 15-64 ani (60,4% - 2007 şi 61,2% - 2008) ($p<0,005$), urmate de cele de ?65 ani (39,4% - 2007 şi 38,6% - 2008) ($p<0,05$) (tab. IV, V).

În perioada 2004-2008, HTAE, în judeţul Iaşi, a înregistrat un total de 50.953 cazuri (67,2%ooo), cu o medie anuală de 10.000 (12,2%ooo). Cumulativ pentru cei 5 ani, 49,3% au fost cazuri de HTAE din urban, faţă de 50,7% rural ($p>0,05$), iar repartiţia pe sex a arătat o uşoară diferenţă în favoarea sexului feminin (M : 42% ; F : 58%) ($p<0,05$) (tab. VI).

Pentru aceeaşi perioadă, 63,7% din cazurile de HTAE au fost înregistrate la grupul de vârstă 15-64 ani şi 36,1% la ≥65 ani, cu diferenţă puternic semnificativă ($p<0,005$) (tab. VII).

4. Distribuţia valorilor de incidenţă a cazurilor de diabet zaharat, în România şi Judeţul Iaşi. Alături de HTAE, diabetul zaharat (DZ) insulino-dependent (ID) şi cel noninsulino-dependent (NID), se situează între factorii de risc major pentru BCR. Astfel, în România, s-au raportat 7860 (36,5%ooo) cazuri de DZID în 2007 şi 7960 (37,0%ooo) în 2008, faţă de 56.208 (261,4%ooo) şi, respectiv, 69.017 (321,0%ooo) cazuri de DZNID. Pentru ambele tipuri de DZ, diferenţa valorilor de incidenţă anuală pentru mediul urban şi, respectiv, rural a fost nesemnificativă ($p>0,05$) (tab. VIII).

Repartiţia pe grupuri de vârstă a evidenţiat valori scăzute până la 14 ani (0,01 la 2,8%), pentru ca acestea să crească, cu semnificaţie ridicată, la 15-64 ani ($p<0,005$), pentru ambele tipuri de DZ şi să înregistreze o scădere pentru vârsta de ≥65 ani.

Şi la nivelul judeţului Iaşi, ambele tipuri

TABELUL IV

Incidenţa cazurilor de hipertensiune arterială esenţială, pe medii şi sex, în România, în anii 2007 şi 2008

Afecţiunea	Sex (%)							
	Masculin				Feminin			
	Urban		Rural		Urban		Rural	
	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008
Hipertensiune arterială esenţială	29,0	25,8	18,9	19,2	27,8	30,0	24,3	24,0

TABELUL V

Incidenţa cazurilor de hipertensiune arterială esenţială pe grupuri de vârstă, în România, în anii 2007 şi 2008

Afecţiunea	Grupuri de vârstă (ani) (%)							
	< 1		1-14		15-64		≥ 65	
	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008
Hipertensiune arterială esenţială	0	0	0,09	0,1	60,4	61,2	39,4	38,6

TABELUL VI

Distribuţia pe medii şi sex a cazurilor de hipertensiune arterială esenţială înregistrate în judeţul Iaşi, în perioada 2004-2008

Anul	Nr. cazuri	Medii (%)		Sex (%)	
		Urban	Rural	Masculin	Feminin
2004	10148	52,1	47,9	43,4	56,6
2005	9188	52,2	47,8	42,3	57,6
2006	9754	54,7	45,2	42,7	57,3
2007	10561	43,9	56,1	41,2	58,8
2008	10702	47,5	55,4	40,4	59,6
Total	**50350**	**49,3**	**50,7**	**42,0**	**58,0**

TABELUL VII

Distribuţia pe grupuri de vârstă a cazurilor de hipertensiune arterială esenţială înregistrate în judeţul Iaşi, în perioada 2004-2008

Anul	Nr. cazuri	Grupuri de vârstă (ani) (%)			
		< 1	1-14	15-64	≥ 65
2004	10148	0	0,02	66,1	33,9
2005	9188	0	0	63,1	36,9
2006	9754	0	0	63,7	36,2
2007	10561	0	0,07	62,8	37,0
2008	10702	0	0,2	63,0	36,8
Total	**50350**	**0**	**0,04**	**63,7**	**36,1**

TABELUL VIII

Incidenţa cazurilor de diabet zaharat insulino- şi noninsulino-dependent, pe medii şi sex, în România, în anii 2007 şi 2008

Afecţiunea	Medii (%)				Sex (%)							
					Masculin				Feminin			
	Urban		Rural		Urban		Rural		Urban		Rural	
	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008
DZID	63,0	61,4	37,0	38,6	39,3	31,7	18,3	18,3	23,6	30,1	18,4	20,5
DZNID	62,5	58,5	37,5	41,5	35,2	28,1	16,8	18,3	27,3	27,3	17,0	23,2

TABELUL IX

Incidenţa, pe grupuri de vârstă, a cazurilor de diabet zaharat insulino- şi noninsulino-dependent, în România, în anii 2007 şi 2008

Afecţiunea	Grupuri de vârstă (ani) (%)							
	< 1		1-14		15-64		≥ 65	
	2007	2008	2007	2008	2007	2008	2007	2008
DZID	0,02	0	2,8	2,8	71,9	71,3	25,2	26,1
DZNID	0,01	0,001	0,2	0,3	67,3	68,0	32,4	31,7

de DZ au înregistrat diferenţe nesemnificative (p>0,05) pe medii, dar acestea au fost mai evidente pentru sexul masculin în cazul DZID. Repartiţia pe grupuri de vârstă a evidenţiat caracteristici similare în judeţul Iaşi, cu cele de nivel naţional.

În judeţul Iaşi, în perioada 2004-2008, medicii de familie din 421 cabinete au asistat 2146 cazuri de DZ, din care 366 (17%) - ID (173 : 14,8% din urban şi 193 : 19,6% din rural) şi 1782 (83%) - NID (992 : 85,2% din urban şi 790 : 80,4% din rural). Diferenţa între medii a fost moderat semnificativă (p<0,05), dar a fost puternic semnificativă (p<0,005) între cele două forme ale DZ (ID şi NID).

Incidenţa pe sex a cazurilor de DZ, ambele tipuri, în cei doi ani, atât în urban, cât şi în rural, nu a înregistrat diferenţe cu semnificaţie statistică (p>0,05). Repartiţia pe grupuri de vârstă a evidenţiat că valorile de incidenţă ale DZ cele mai ridicate au fost la 15-64 ani, urmată de ≥65 ani, atât pentru DZID, cât şi NID (p<0,05) (tab. IX, fig. 2).

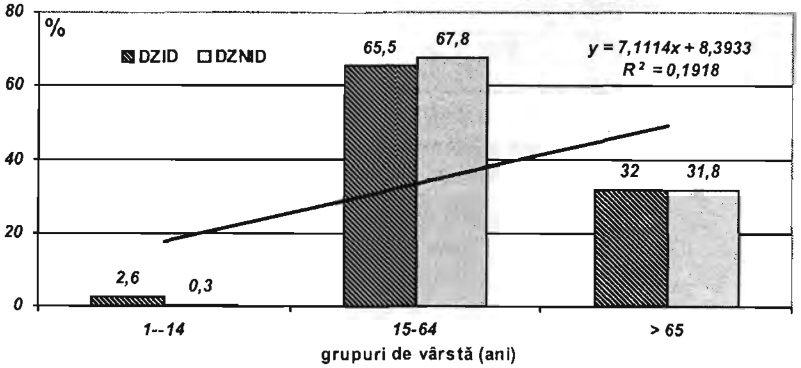


Fig. 2. Repartiţia pe grupuri de vârstă a valorilor de incidenţă a cazurilor de diabet zaharat insulino- şi noninsulino-dependent, în Judeţul Iaşi, în anul 2008

CONCLUZII

Boala cronică de rinichi (BCR) se situează, prin multiplele sale aspecte medicale şi socio-economice, între preocupările de prim ordin în promovarea sănătăţii populaţionale. Insuficienta cunoaştere a epidemiologiei BCR şi, îndeosebi a factorilor de risc, este urmarea absenţei unor programe naţionale şi locoregionale de supraveghere, screening şi pentru creşterea interesului pentru prevenţia primară.

Cercetările clinico-epidemiologice efectuate la nivelul judeţului Iaşi şi, comparativ, cu unele aspecte naţionale, privind principalele afecţiuni implicate determinant în producerea BCR (sindromul nefritic cronic şi nefroza, insuficienţa renala cronică, litiaza rinichiului şi a căilor urinare) sau care joacă un rol de factor de risc cu mare agresivitate (HTAE şi DZ) au evidenţiat valori crescute ale incidenţei în condiţiile unor deficienţe în ceea ce priveşte culegerea, prelucrarea şi interpretarea informaţiilor care să permită constituirea unei baze de date atât de utilă elaborării şi implementării programelor prevenţionale.

Medicii de familie au largi posibilităţi pentru a acumula cunoştinţe clinico-epidemiologice despre pacienţii cu risc de a contracta BCR, beneficiari ai unor intervenţii prevenţionale primare sau pacienţii aflaţi în stadii incipiente ale BCR, care pot beneficia de o prevenţie secundară.

Prevenţia primară a BCR rămâne un deziderat de prim ordin, iar eficienţa acesteia este dependentă şi de utilizarea unor metode şi mijloace care să permită obţinerea de informaţii comparabile şi cu posibilităţi de extrapolare.

BIBLIOGRAFIE

1. Covic A, Schiller A, Constantinescu O, Brădăţean V et al. Boala cronică de rinichi în România : care este prevalenţa reală în populaţia generală adultă. *Rev Med Chir Soc Med Nat* 2008 ; 112 (4) : 922-931.
2. Lameire N, Jager K, Van Biesen W et al. Chronic kidney disease : an European perspective. *Kidney Int Suppl* 2005 ; 99 : S30-S38.
3. Coresh J, Selvin E, Stevens LA et al. Prevalence of chronic kidney disease in the United States. *JAMA* 2007 ; 298 : 2038-2047.
4. Skorecki K, Green J, Brenner BM. Chronic renal failure. In : Braunwald E, Fanci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL editors. *Principles of Internal Medicine*. 15th ed., vol. 2, International Edition, 2001, 1551-1562.
5. Levey AS, Atkins R, Coresh J et al. Chronic kidney disease as a global public health problem : approaches and initiatives – a position statement from Kidney Disease Improving Global Outcomes. *Kidney Int* 2007 ; 72 : 247-259.
6. Levey AS, Coresh J, Balk E et al. National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease : evaluation, classification, and stratification. *Ann Intern Med* 2003 ; 139 : 137-147.
7. Covic A, Gusbeth-Tatomir P, Goldsmith DJ. The epidemic of cardiovascular disease in elderly patients with chronic kidney disease. Two facets of the same problem. *Int Urol Nephrol* 2006 ; 38 : 371-379.

8. Quinn MP, Rainey A, Cairnes KJ, et al. The practical implications of using standardized estimation equations in calculating the prevalence of chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2008 ; 23 : 542-548.
9. Brenner RM, Brenner BM. Disturbances of renal function. In : In : Braunwald E, Fanci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL editors. *Principles of Internal Medicine*. 15th ed., vol. 2, International Edition, 2001, 1535-1541.
10. McChillian WM, Ramirez SPB, Jurkowitz C. Screening for chronic kidney disease : unresolved issues. *J Amer Soc Nephrol* 2003 ; 14 : S81-S87.
11. Hallan SI, Dahl K, Oien CM et al. Screening strategies for chronic kidney disease in the general population ; follow-up of cross sectional health survey. *BMJ* 2006 ; 333 : 1047-1052.
12. Wilson JMG, Junger G. *Principles and Practices of Screening for Disease*. Public Health Paper, WHO, 1968, 34.

NOUTĂŢI

DIETELE BOGATE ÎN CALCIU REDUC RISCUL DE CANCER DIGESTIVE

Cercetătorii de la Institutul Naţional de Cancer din Statele Unite ale Americii au constatat că persoanele care consumă alimente cu conţinut crescut de calciu au un risc semnificativ mai redus de a dezvolta cancere digestive. Au fost chestionate 500.000 de persoane cu vârste între 50-71 ani despre obiceiurile culinare, subiecţii fiind urmăriţi timp de şapte ani ; în acest interval au fost diagnosticate 36.965 cancere la bărbaţi şi 16.605 cancere la femei. Jumătate dintre subiecţi au relatat consumul de multivitamine cu calciu, iar 14% dintre bărbaţi şi 41% dintre femei consumau zilnic suplimente de calciu. Creşterea consumului de calciu s-a asociat cu o reducere neliniară a incidenţei cancerelor în cazul femeilor cu un consum zilnic de calciu de cel puţin 1.300 mg/zi. Riscul de cancere digestive la persoanele care consumă zilnic produse lactate, alte alimente bogate în calciu şi de suplimente cu calciu cantităţi a fost cu aproximativ 23% mai mic în cazul femeilor şi cu16% în cazul bărbaţilor, faţă de persoanele cu consum redus de calciu. Scăderea acestui risc a fost mult mai evidentă în cazul cancerului la colon. Pe de altă parte, consumul regulat de calciu nu pare să aibă nici o legătură cu scăderea frecvenţei cancerelor de prostată, mamar, sau alte localizări extradigestive (Park Y, et al. Dairy food, calcium, and risk of cancer in the NIH-AARP Diet and Health Study. *Arch Intern Med* 2009 ; 169 : 391-401).

Camelia Cojocaru

MELANOMUL INTESTINULUI SUBŢIRE

Melanoamele intestinale pot fi tumori primare sau metastaze ale unor melanoame cutanate, oculare sau anale. Melanomul intestinal, ca tumoare primară este extrem de rar, mai ales că melanomul metastatic al intestinului subţire este frecvent întâlnit deoarece melanomul cutanat are tendinţa de a metastaza în tractul gastro-intestinal. Deoarece un diagnostic diferenţial între cele două forme de melanom (primar sau metastatic) este greu de stabilit se recurge la o descriere amănunţită a caracteristicilor fiecăruia şi la o investigare imagistică complexă. Un tranzit baritat clasic sau o examinare prin tomografie computerizată au o sensibilitate redusă, dar un examen PET poate creşte şansele de identificare a unui melanom al intestinului subţire. Deşi s-au încercat diferite protocoale terapeutice, exereza chirurgicală a metastazelor intestinale rămâne tratamentul de elecţie la pacienţii cu tumori rezecabile. Nici un tratament sistemic nu ameliorează rata de supravieţuire la pacientul cu melanom cu metastaze intestinale, prognosticul fiind rezervat. Pacienţii cu melanom primar al intestinului subţire au un pronostic mai sumbru decât al pacienţilor care au metastaze intestinale ale unui melanom cutanat (Lens M, Bataille V, Krivokapic Z. Melanoma of the small intestine. *The Lancet Oncol* 2009 ; 10 (5) : 516–521).

F.D. Petrariu

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE **ARTICOLE ORIGINALE**

OBSERVAŢII PE DOUĂ GEMENE A INFLUENŢEI RADIAŢIEI COSMICE CA FACTOR DE RISC

Magdalena Vişănescu
Institutul Naţional de Medicină Aeronautică şi Spaţială Bucureşti

OBSERVATION ON TWINS OF COSMIC RADIATION INFLUENCE AS A RISC FACTOR (Abstract) : During the flight the cosmic radiations are able to go through the aeroplanes' walls and produce mutations to the human chromosomes. **Aim** : To evaluate the correlations between cosmic radiation and the pathology of flying personnel. **Material and method** : Two twin patients, one with a 15 years activity as a flight crew member, and the other with a regular activity on the ground. The patients were examined clinical, biochemical and imagistic. It was noticed the genetic and environmental contribution to their pathology. The patient whose activity was in the plane made a supplementary genetic test to refute or to confirm the presence of the chromosome alterations induced by the cosmic radiation. **Results** : The patient, member of the flight crew, presented hypercholesterolemia, more evident structure modifications of the mammary gland, but the chromosome alteration was not present. Conclusions : Having a first grade relative with dyslipidemia and uterine cancer, the structural or blood homeostasis modifications of the flight crew member can be either due to a high, genetically transmitted, susceptibility or due to aggression factors from the plane's microclimate and possible to lifestyle. **Key words** : COSMIC RADIATION, CHROMOSOME ALTERATION,TWIN STUDIES

Mediul de zbor este total diferit de cel terestru, la altitudinea la care avioanele comerciale călătoresc modificându-se atât presiunea atmosferică (scade la jumătate faţă de nivelul mării la 5,5 km altitudine şi la o pătrime la 11 km altitudine) cât şi temperatura,umiditatea,curenţii de aer sau radiaţiile (1). De aceea, pentru confortul fiziologic al personalului aeronautic s-a procedat la presurizarea spaţiului din aeronavă (2,3, 4) şi la climatizarea acestuia, ozonul în exces şi impurităţile eliminate cu filtre speciale (2,5). Totuşi, pentru radiaţia cosmică ionizantă prezentă în acest spaţiu în intensitate de 90 ori mai mare ca la nivelul solului (6,7) nu s-a putut găsi o metodă eficientă de protecţie a organismului uman.

Radiaţia cosmică ionizantă este alcătuită din raze X, gama şi radiaţii corpusculare emise de soare sau de alte corpuri cereşti (8). Radiaţiile corpusculare reprezintă radiaţiile emise de componente ale atomului descompus prin ciocniri în spaţiu-electroni, protoni, neutroni sau combinaţii de doi protoni şi doi neutroni numite particule alfa ce sunt încărcate cu o cantitate imensă de energie. Se ştie că radiaţiile ionizante produc dezorganizări structurale la nivelul ADN-ului putând duce la alterări cromozomiale şi implicit la mutaţii genetice sau cancere (9,10) acest risc fiind prezent şi la personalul aeronautic (11,12,13).

În mai 1996 Consiliul Uniunii Europene (UE) adopta Directivele 96/29 ale Comunităţii Europene pentru Energie Atomică (EURATOM) ce se refereau la protecţia celor expuşi profesional la radiaţii ionizante. În articolul 42 al acestor directive, rămas nemodificat până în prezent, se făcea referire şi la personalul aeronavigant, a cărui expunere la radiaţii cosmice trebuia limitată la o doză de 100 mSv pe 5 ani consecutivi şi care trebuia informat despre efectul acestora asupra organismului. Statele membre ale UE trebuiau să-şi însuşească aceste directive până în mai 2000 (14).

SCOP

Să se investigheze clinic şi paraclinic două gemene şi să se observe contribuţia factorilor genetici şi de mediu asupra patologiei gemenelor. Să se observe eventualele corelaţii dintre radiaţia cosmică ca factor de risc şi patologia gemenei ce şi-a desfăşurat activitatea 15 ani în mediul aeronautic.

Testele efectuate gemenelor au urmărit şi evidenţierea unui cancer în general sau a unui cancer de sân în particular, deoarece încă de la jumătatea secolului XX se vorbea despre efectul nociv al radiaţilor cosmice (15) iar mai de curând, în anul 2003, Mohler SR arăta că dacă în SUA riscul de deces prin cancer în populaţia generală era de 220 la 1000 de persoane la membrii unui echipaj de zbor, după 20 de ani de activitate, acest risc creştea datorită radiaţiilor cosmice la 225 la 1000 de persoane (16), având deci o creştere a riscului de deces de la 0,1 la 5 la 1000 de persoane (17) şi deoarece în România cancerul de sân în anul 1996 se situa pe primul loc între neoplazii (18), iar radiaţia cosmică poate creşte riscul de apariţie a unui carcinom mamar la personalul aeronautic feminin (19,20)

MATERIAL ŞI METODĂ

În acest articol sunt prezentate date despre două gemene în vârstă de 35 de ani: DM - cu activitate de 15 ani ca membră a unui echipaj de zbor şi DC - cu activitate obişnuită la sol, ce au fost iniţial studiate din punct de vedere clinic, paraclinic şi al factorilor de risc. Deşi gemenele erau biviteline, s-a considerat că ele ar reda mult mai fidel modificările aceluiaşi organism aflat în două situaţii de mediu diferite decât studiul a două persoane complet diferite.

Din antecedentele heredocolaterale ale celor două gemene s-au reţinut: mama cu dislipidemie mixtă şi talasemie minoră, cu operaţie pentru cancer uterin în urmă cu 9 ani, o rudă de gradul doi cu cancer de cap de pancreas.

Antecedentele personale fiziologice şi patologice au arătat două persoane nulipare, DM cu o hipercolesterolemie diagnosticată la începutul anului 2009 iar DC cu talasemie minoră depistată cu ocazia unui examen paraclinic de rutină; nu au utilizat anticoncepţionale.

Dieta ambelor gemene este echilibrată, normolipidică, normoproteică, normoglucidică.

Examenul clinic pe aparate şi sisteme a fost în limite normale, gemenele neavând acuze subiective.

În cadrul examenului paraclinic s-au efectuat analize de laborator - uzuale şi hormonale, la DM evidenţiindu-se un colesterol mărit, cu valoarea de 257 mg/dL, restul valorilor fiind normale, iar la DC evidenţiindu-se prezenţa talasemiei minore: Hb 12,4 g/dL, sideremie 76 µg/dL, MCV 64,9/fL, restul normal.

Ecografiile abdominale şi radiografiile pulmonare efectuate au fost normale.

În schimb ecografia mamară a arătat uşoare diferenţe între structura glandelor mamare a celor două fete: DC - BIRADS 1 bilateral, DM - BIRADS 2 bilateral (fig. 1a, fig. 1b) (clasificarea BIRADS - Breast Imaging Reporting and Data System fiind o clasificare radiologică a modificărilor structurale din glanda mamară, riscul de a fi evidenţiată o tumoare mamară fiind evaluat pe o scală de la 1 la 6, fiind cu atât mai mic cu cât scorul este mai mic).

Pacienta DM care şi-a desfăşurat activitatea în avion a efectuat suplimentar un test genetic care să infirme sau să confirme

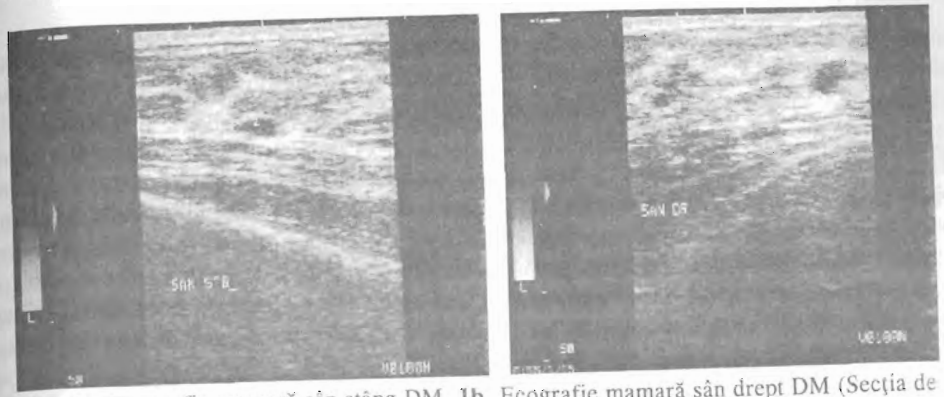


Fig. 1a. Ecografie mamară sân stâng DM. **1b.** Ecografie mamară sân drept DM (Secţia de Explorări funcţionale a Spitalului Clinic de Urgenţă Militar Central Bucureşti)

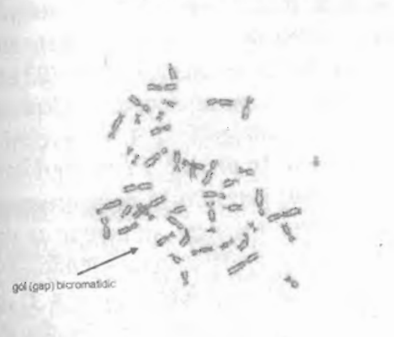


Fig. 2. Cromozomi dispuşi haotic într-o mostră de sânge, DM. Gap bicromatidic. Nr. imagine: 063

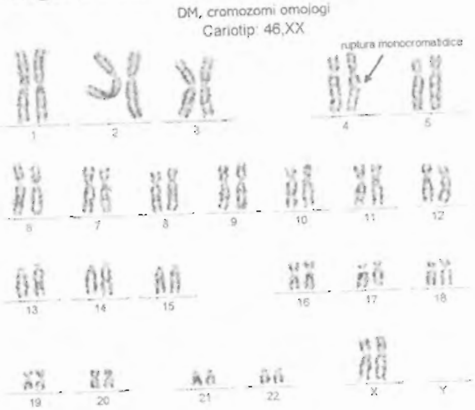


Fig. 3. Cariotip 46,XX DM. Grupare în cromozomi omologi. Ruptură monocromatidică pe cromozomul 4. Nr. imagine: 004

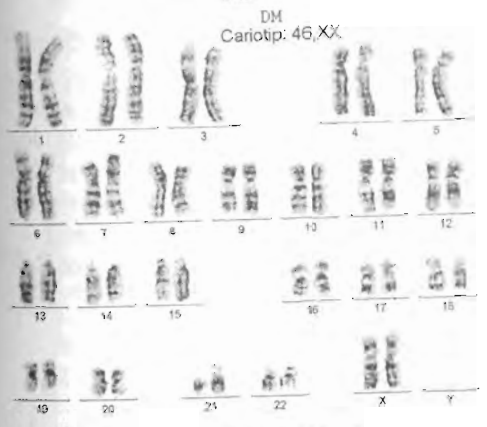


Fig. 4. Cariotip 46,XX DM. Grupare în cromozomi omologi. Nr. imagine: 085

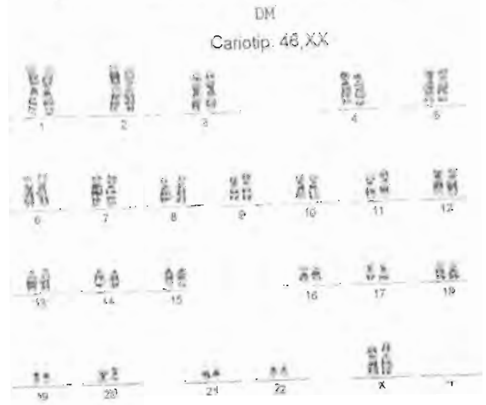


Fig. 5. Cariotip 46,XX DM. Grupare în cromozomi omologi. Nr. imagine: 087

(Laboratorul de Genetică Medicală, Institutul Naţional de Cercetare Victor Babeş, Bucureşti) prezenţa alterărilor cromozomiale induse de radiaţia cosmică, cu risc de producere a neoplaziilor. Testul a constat din prelevarea de sânge periferic, colorare Giemsa, culturi de 48 şi 72 de ore de sânge total şi studiul cromozomilor în metafază din limfocitele din această mostră de sânge. Testul nu a evidenţiat rearajamente de tip cromozomi dicentrici, tri sau tetraradiali sau fragmente acentrice caracteristice unei eventuale iradieri profesionale (fig. 2, fig. 3, fig. 4, fig. 5). La 48 de ore de la cultivare s-a evidenţiat o ruptură unicromatidică iar la 72 de ore un gol (gap) bicromatidic în cele 110 metafaze captate şi analizate cu programul Metafer 4 şi 31 de cariotipuri realizate cu sistemul Ikaros Metasystems. Incidenţa şi severitatea celor două modificări nu au avut nici o semnificaţie.

REZULTATE

La nivelul cromozomilor radiaţiile pot produce deleţii - pierderea unei părţi din cromozom,duplicaţii - alipirea la zona ruptă a unei părţi dintr-un cromozom omolog, inversiuni - ataşarea unui fragment de cromozom cu genele într-o ordine inversă, translocaţii - schimbarea de fragmente între doi cromozomi neomologi, cromozomi dicentrici sau inelari (21). Astfel, într-un studiu efectuat de NASA în 2009, se afirmă că, utilizând biodozimetria (testul de evidenţiere al cromozomilor), s-au putut identifica numeroase aberaţii cromozomiale la astronauţi datorită expunerii la radiaţii pe orbita spaţială şi s-a putut chiar stabili o corelaţie între dozele indicate de aparate şi cele biologice ce determină alterări cromozomiale (22).

Afectarea cromozomială nu a fost prezentă în acest caz la persoana ce-şi desfăşura activitatea de 15 ani în mediul aeronautic. Evaluarea unei singure persoane alese la întâmplare nu poate justifica concluzii pertinente în ceea ce priveşte modificările induse de radiaţiile cosmice asupra cromozomilor umani. În ceea ce priveşte restul modificărilor, dintre cele două gemene studiate, cea care şi-a desfăşurat activitatea în avion prezenta un profil lipidic diferit, o hipercolesterolemie şi modificări mai accentuate de structură la nivelul glandei mamare.

DISCUŢII

Putem oare afirma că doar factorul genetic a avut o contribuţie în această patologie?

Într-un studiu comparativ efectuat în anul 2009 pe 713 gemeni monozigoţi şi 698 gemeni dizigoţi s-a arătat că factorul de risc principal al obezităţii şi dislipidemiei este dieta, factor de risc ce este independent de predispoziţia genetică (23).

Într-un alt studiu ce a inclus 443 perechi de gemeni monozigoţi şi 124 perechi de gemeni dizigoţi împreună cu părinţii lor s-a subliniat rolul geneticii în comportamentul alimentar, comportament alimentar ce duce ulterior la obezitate sau dislipidemie (24).

Deşi hipercolesterolemia pare a fi mai degrabă o afecţiune genetică sau datorată stilului de viaţă, unele studii atenţionează asupra faptului că şi microclimatul din avion, cu hipoxia şi stresul de la acest nivel, poate avea o contribuţie în creşterea valorilor colesterolului plasmatic (25,26).

Deşi unele studii neagă rolul radiaţiei cosmice ca factor de risc pentru cancerul echipajului de zbor (27), alte studii atrag atenţia că, pe lângă influenţa exercitată de factorii genetici, statusul hormonal şi de reproducere, glanda mamară ar putea fi afectată şi de radiaţia cosmică ionizantă - chiar în cantităţi mici - din timpul zborurilor cu avionul (20).

CONCLUZII

1. Modificările structurale sau ale homeostaziei sangvine întâlnite la DM, 35 de ani, membră a unui echipaj de zbor de 15 ani se pot datora unei susceptibilităţi crescute moştenite genetic peste care s-au suprapus factori agresionali din microclimatul avionului şi posibil din stilul de viaţă.

2. Faptul că nu au fost depistate anomalii cromozomiale arată atât faptul că cel puţin în momentul de faţă membra echipajului de zbor nu are risc de a dezvolta cancer cât şi faptul că, de-a lungul celor 15 ani de zbor, ea a fost expusă unei doze de radiaţii cosmice în limitele celor recomandate de organizaţiile internaţionale de protecţie radiologică.

3. Acest articol arată necesitatea efectuării la încadrare a unei selecţii a lotului de femei ce urmează a face parte din echipajul avionului cu includerea în investigaţiile paraclinice a determinării profilului lipidic (investigaţie efectuată în acest moment doar personalului aeronautic cu vârsta peste 40 de ani).

4. Deşi acest articol nu poate justifica concluzii pertinente în ceea ce priveşte modificările induse de radiaţiile cosmice asupra cromozomilor umani, respectiv în producerea cancerului, pentru extinderea studiului, în urmărirea medicală periodică a personalului aeronautic ar putea fi inclus şi testul de evidenţiere a cromozomilor.

5. Ţinând cont de incidenţa crescută a cancerului de sân şi de faptul că în ţara noastră nu există încă implementat un program de screening al neoplasmului mamar, în cadrul evaluării medicale periodice a personalului aeronautic feminin ar putea fi inclusă fie ecografia mamară (la persoanele sub 40 de ani) fie mamografia (la persoanele peste 40 de ani).

BIBLIOGRAFIE

1. Hăulică I, Rusu V. Elemente de fiziologie ambientală. In: Hăulică I editor. *Fiziologie umană*. ed. a III-a. Bucureşti: Ed. Medicală, 2007, 979-1025.
2. Macri M, Răduică C et al. *Curs de Medicină Aerospaţială*. vol II. Bucureşti: Ed. Militară, 2004.
3. Gradwell DP. Prevention of hypoxia. In: Ernsting J, Nicholson AN, Rainford DJ editors. *Aviation Medicine*. 3rd ed. London: Bath Press, 2000, 59-76.
4. Macmillan Alistair JF. The pressure cabin. In: Ernsting J, Nicholson AN, Rainford DJ editors. *Aviation Medicine*. 3rd ed. London: Bath Press, 2000, 112-128.
5. Harding RM. The Earth's atmosphere. In: Ernsting J, Nicholson AN, Rainford DJ editors. *Aviation Medicine*. 3rd ed. London: Bath Press, 2000, 3-12.
6. Bagshaw M. Cosmic radiation in commercial aviation. *Revista de Medicină şi Psihologie Aeronautică* 2007; 4 (41): 9-24.
7. Haşegan D. *Radiaţiile cosmice şi experimente spaţiale româneşti*. Bucureşti: Ed. Ştiinţă şi Tehnică, 2001.
8. Lea DE. *Actions of Radiations on Living Cells*. 2nd ed. Cambridge: University Press, 1956.
9. Gheorghe N, Vlădescu C, Apetroae M. *Radiaţiile ionizante şi viaţa*. Bucureşti: Ed. Academiei RSR, 1984.
10. *** International Commission on Radiological Protection. 1990 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. *ICRP Publication 60*. Oxford: Pergamon Press, 1991.
11. Gundestrup M, Storm HH. Radiation-induced acute myeloid leukaemia and other cancers in commercial jet cockpit crew: a population-based cohort study. *Lancet* 1999; 354 (9195): 2029-2031.
12. De Luca JC, Picco SJ, MacIntyre C, Dulout FN, Lopez Larraza DM .The prevalence of chromosomal aberration in Argentine air crew members. *Arch Environ Occup Health* 2009; 64 (2): 101-106.
13. Lim MK. Cosmic rays: are air crew at risk? *Occup Environ Med* 2002; 59 (7): 428-433.
14. *** Council Directive 96/29/ EURATOM of 13 May 1996 laying down basic safety standards for protection of the health of workers and the general public against the dangers arising from ionising radiation. *Official Journal of the European Communities* 39, L159, 1996.

15. Goedeke AD. *Summary of Present Knowlege on Space Radiation*. 1963 National Winter Convention on Military Electronics. Los Angeles, 1963.
16. Mohler SR. Galactic radiation exposure during commercial flights : Is there a risk? *CMAJ* 2003 ; 168 (9) : 157-158.
17. Friedberg W, Faulkener DN, Snyder L, Darden Jr EB, O'Brien K. Galactic cosmic radiation exposure and associated health risks for air carrier crew members. *Aviat Space Environ Med* 1989 ; 60 : 1104-1108.
18. Anghel R, Minea L, Dediu M et al. Ghid de management al cancerului mamar. *Monitorul Oficial nr.608 bis*, 3 sept 2009.
19. Buja A, Mastrangelo G, Perissinotto E et al.Cancer incidence among female flight attendants : a meta-analysis of published data. *J Womens Health (Larchmt)* 2006 ; 15 (1) : 98-105.
20. Hammer GP, Blettner M, Zeeb H. Epidemiological studies of cancer in aircrew. *Radiat Prot Dosimetry* 2009 ; 136 (4) : 232-239.
21. Fedorenko BS, Sniqireva GP, Boqomazova AN, Novitskaia NN, Shevchenko VA. Cytogenetic effects on blood lymphocytes of cosmonauts after low doses of space radiation. *Aviakosm Ekoloq Med* 2008 ; 42 (3) : 13-18.
22. *** NASA Human Research Program. Protecting astronaut health by limiting career exposure to space radiation. *Aviat Space Environ Med* 2009 ; 80 (8) : 741-742.
23. Bogl LH, Pietiläinen KH, Rissanen A, Kaprio J. Improving the accuracy of self-reports on diet and physical exercice : the co-twin control method. *Twin Res Hum Genet* 2009 ; 12 (6) : 531-540.
24. Sung J, Lee K, Song YM, LeeMK, LeeDH. Heritability of eating behavior assessed using the DEBQ (Dutch Eating Behavior Questionnaire)and weight-related traits : the healthy twin study. *Obesity* epub ahead of print 2009.
25. Cho EY, Lee YW, Kim HS. The effect of job stress and lifestyle on blood lipid levels in male aircrew personnel. *Taehan Kanho Hakhoe Chi* 2005 ; 35 (4) : 672-679.
26. Li J, Savransky V et al. Hyperlipidemia and lipid peroxidation are dependent on the severity of chronic intermittent hypoxia. *J Appl Physiol* 2007 ; 102 (5) : 557-563.
27. Paridou A, Velonakis E, Langner I, Zeeb H, Blettner M, Tzonou A. Mortality among pilots and cabin crew in Greece, 1960-1997. *Int J Epidemiol* 2003 ; 32 (2) : 244-247.

NOUTĂŢI

EFECTE HIPOGLICEMIANTE ALE UNOR COMPUŞI FENOLICI IZOLAŢI DIN SCOARŢA RĂDĂCINII DE *MORUS ALBA* (STUDII *IN VIVO*)

Morus alba L. (*Moraceae*, dudul alb) este o specie originară din nordul Chinei. În medicina tradiţională frunzele de dud se folosesc în tratamentul diabetului zaharat, afecţiunilor pulmonare, gastrointestinale şi asteniei în timp ce fructele sunt utilizate ca laxative, depurative şi tonice. Scoarţa ramurilor recoltate primavara, sub formă de decoct îndulcit, este un tenifug eficient. Studiile întreprinse până în prezent au investigat, mai ales, compoziţia chimică a frunzelor de *Morus alba* L. ; acestea conţin taninuri, flavonoide, saponine triterpenice şi steroli. Recent, din scoarţa recoltată de pe rădăcinile de *Morus alba* L., Zhang et al. au izolat trei compuşi fenolici : moracina, mullberozida şi 4'-glucozida steppogeninei. Efectele hipoglicemiante ale celor trei compuşi au fost studiate la animale de experienţă cu diabet indus prin administrare de aloxan. Acţiune hipoglicemiantă semnificativă a fost evidenţiată pentru toţi compuşii izolaţi administraţi în doze de 100 mg/kg. Pentru 4'-glucozida steppogeninei acţiunea hipoglicemiantă s-a menţinut şi la doza de 50 mg/kg (Zhang M, Chen M, Zhang H-Q, Sun S, Xia B, Wu F-H. *In vivo* hypoglycemic effects of phenolics from the root bark of *Morus alba*. *Fitoterapia* 2009 ; 80 (8) : 475-477).

Anca Miron

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE **ARTICOLE ORIGINALE**

INFECŢIILE FUNGICE ŞI PSORIAZISUL UNGHIAL

Laura Gheucă Solovăstru, D. Vâţă
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
Disciplina de Dermatologie

FUNGAL INFECTIONS AND NAIL PSORIASIS (Abstract) : Onychomycosis and psoriasis are common diseases and it is possible that they coexist in the same patient. Psoriasis is a common cause of disturbance of the nail morphology. Nail disorders was reported in 10-80% of patients with psoriasis and may be associated with all clinical forms of disease. It has been suggested that the nail dystrophy in patients with psoriasis produce the lose of the natural protective barrier and increase vulnerability to fungal infections. But most authors report that in patients with psoriasis the prevalence of onychomycosis is no higher than in the general population. We conducted an observational analytical retrospective study of case report forms of patients with nail psoriasis hospitalized in Iasi Dermatology Clinic, 2004-2008. 360 patients were hospitalized with psoriasis. Of these 32 patients had nail disorders. **Key words** : ONYCHOMYCOSIS, PSORIASIS

Onicomicoza şi psoriazisul sunt afecţiuni frecvente în populaţie şi este posibil ca la acelaşi pacient ele să coexiste. Psoriazisul constituie o cauză de perturbare a morfologiei unghiale iar spectrul modificărilor unghiei în psoriazis este foarte larg. Afectarea unghială a fost raportată la 10-80% din pacienţii cu psoriazis si se poate asocia cu toate formele clinice de boală. S-a sugerat că distrofia unghiei la pacienţii cu psoriazis duce la pierderea barierei naturale protectoare şi creşte vulnerabilitatea în faţa infecţiilor fungice. Majoritatea autorilor raportează însă că prevalenţa onicomicozei la pacienţii cu psoriazis nu este mai mare decât în restul populaţiei.(1)

SCOP

În lucrare ne propunem următoarele obiective : aprecierea incidenţei infecţiilor fungice la pacienţii cu psoriazis cu atingeri unghiale internaţi în Clinica Dermatologică Iaşi şi evidenţierea particularităţilor clinice şi evolutive a morfologiei unghiale la pacienţii cu psoriazis şi onicomicoză.

MATERIAL ŞI METODĂ

Am efectuat un studiu retrospectiv de tip analitic observaţional al foilor de observaţie a pacienţilor cu psoriazis unghial internaţi în Clinica Dermatologică Iaşi, în perioada 2004-2008. Diagnosticul de psoriazis a fost stabilit în principal pe baza aspectului clinic. La pacienţii care au prezentat hiperkeratoza subunghială sau fenomene de onicoliză parţială sau totală la unghiile de la mână sau picior sugestive pentru onicomicoză s-a efectuat examen micologic direct.

REZULTATE

În perioada studiată 2004-2008 în Clinica Dermatologică Iaşi au fost internaţi 360 pacienţi cu psoriazis, în medie 72 pe an. Dintre aceştia 32 de pacienţi prezentau şi modificări unghiale. Atingerile unghiale erau de grade diferite, de la modificări de culoare, hiperkeratoză unghială şi onicoliză aspectul clinic sugerând şi alte patologii unghiale precum onicomicoza. S-a efectuat examen micologic direct pentru una două unghii cu modificări mai evidente şi care au pus probleme de diagnostic diferenţial.

Examenul micologic direct a fost pozitiv la 21 pacienţi. La 12 pacienţi s-a pus în evidenţă în materialul recoltat numeroase filamente miceliene, ceea ce a permis diagnosticul de onicomicoza dermatofitică. Am remarcat că 70% din pacienţii cu onicomicoză prezentau şi leziuni cutanate de *tinea pedis* confirmate prin examen micologic pozitiv al scuamelor prelevate de la nivelul spaţiilor interdigitale. Pentru alţi 9 pacienţi examenul micologic a pus în evidenţă numeroase levuri iar cultura pe mediu Sabouraud a identificat levuri din genul *Candida albicans*.

Modificările unghiale în onicomicoză au fost de grade diferite:

- 10% din pacienţi prezentau modificări de culoare la 1 până la 5 unghii;
- 50% din pacienţi asociau modificări de culoare şi hiperkeratoză subunghială importantă la 1 până la 4 unghii;
- la 40% din pacienţi s-au pus în evidenţă fenomene de onicoliză parţială sau totală la 1 până la 5 unghii.

Pentru toţi aceşti pacienţi s-a instituit tratament antimicotic pentru o perioadă de 3 luni sistemic şi local cât şi măsuri individuale de profilaxie. La 50% din pacienţi tratamentul antimicotic sistemic a fost asociat tratamentului sistemic cu metotrexat pentru psoriazisul cutanat şi unghial.

După o perioadă de 3 luni de tratament s-a obţinut o ameliorare semnificativă doar la 35% din pacienţii cu atingere unghială importantă (hiperkeratoză subunghială şi onicoliză). La restul pacienţilor leziunile caracteristice au persistat.

DISCUŢII

În literatura de specialitate sunt încă controverse dacă distrofia unghiilor din psoriazis este factor predispozant pentru o infecţie fungică. Se pare că există o legătură directă între rata de creştere lineară a unghiei şi cinetica matricei unghiale (2). Unii autori consideră că rata de creştere a unghiei psoriazice cu depresiuni este semnificativ crescută faţă de aceea a unghiei „normale" din psoriazis (125 versus 109 µm/zi)(3). Ambele au fost semnificativ mai mari decât rata de creştere unghială la persoanele normale (98 µm/zi) (2). În cursul terapiei psoriazisului se produc modificări ale ratei de creştere unghiale. Unele medicamente cum sunt citotoxicele sistemice (methotrexat, azathioprina) reduc semnificativ rata de creştere unghială. Scăderea ratei de creştere unghială la pacienţii cu psoriazis favorizează infecţia fungică. Etretinatul are un efect de accelerare a ratei de creştere a unghiilor de la mâini la pacienţii psoriazici. În unele forme particulare de psoriazis, cum ar fi forma palmo-plantară a psoriazisul pustulos, rata de creştere a unghiilor nu este semnificativ diferită faţă de cea de la subiecţii de control normali (2).

Studii recente au arătat că afectarea unghială este mai severă la pacienţii cu psoriazis cu debut precoce şi la cei cu psoriazis familial (4). Unghiile de la mâini sunt mai frecvent afectate decât cele de la picioare şi nu există o predispoziţie legată de sex sau vârstă. O serie de alte modificări unghiale, ca depresiunile punctiforme de la nivelul lamei unghiale, au fost observate şi în alte afecţiuni cu ar fi: alopecia areata, atopie, eczeme, lichen plan, traumatisme. În psoriazis depresiunile sunt mai largi mai profunde şi mai dispersate pe lama unghială decât cele observate în alopecia areata. În eczemă şi lichen plan apariţia depresiunilor punctiforme unghiale este de obicei însoţită de afectare cutanată periunghială. Onicoliza este o modificare frecventă şi se întâlneşte în infecţii (fungice, bacteriene, virale), traumatisme, dermatita de contact, în cazul utilizării de substanţe chimice pentru îngrijirea unghiilor sau în dermatita atopică. Onicoliza asociată cu hiperkeratoza subunghială apare în psoriazis dar şi în infecţiile fungice şi teste micologice sunt necesare pentru a stabili diagnosticul de certitudine. Striurile longitudinale evidenţiate în psoriazisul unghial au fost remarcate şi în afecţiuni însoţite de tulburări circulatorii periferice, pot fi fiziologice (în special la vârstnici) sau se pot asocia unor boli de colagen sau traumatisme. Hemoragiile "în aşchie"pot fi determinate de traumatisme, infarcte vasculare, eczeme, onicomicoză, scorbut. Leuconichia se întâlneşte în traumatisme, *alopecia areata*, deficit de zinc, intoxicaţii cu metale grele. Aspectul în "pată de ulei" poate fi întâlnit în onicomicoze (candidozice sau dermatofitice).

Chiar dacă prevalenţa onicomicozei este similară cu cea din populaţia generală totuşi infecţia fungică unghială la pacienţii cu psoriazis este posibilă şi relativ frecventă. Factori predispozanţi pentru onicomicoză sunt: vârsta înaintată, sexul masculin, predispoziţia genetică, comorbidităţi (diabetul zaharat, imunodeficienţă, boli arteriale periferice) şi nu în ultimul rând psoriazisul.

Majoritatea (90%) infecţiilor fungice ale unghiei sunt produse de dermatofiţi (*Trichophiton rubrum* şi *mentagrophites*), restul fiind produse de levuri şi alţi fungi.

Alterările morfologice observate la nivelul unităţii unghiale sunt sugestive pentru diverse patologii, dar prezenţa lor în asociere cu leziuni cutanate de psoriazis permite diagnosticul de psoriazis unghial. Literatura raportează cazuri de psoriazis unghial fără leziuni cutanate caracteristice, dar şi leziuni de onicomicoză la pacienţii cu psoriazis fără atingere unghială precum şi asocierea de onicomicoză şi psoriazis unghial. Constelaţia modificărilor unghiale luate împreună cu alte atingeri este puternic sugestivă pentru diagnosticul de psoriazis. Psoriazisul afectează matricea, patul unghial şi hiponichium. Diagnosticul diferenţial este câteodată dificil în absenţa leziunilor cutanate. Toate onicopatiile din cadrul psoriazisului sunt atribuite eronat psoriazisului fără ca o investigare micologică sau un consult medical general să fie realizat.

Leziunile unghiale evocatoare pentru psoriazis unghial sunt:

- depresiunie lamei unghiale
- leuconichia şi pierderea transparenţei unghiei
- onicoliza
- „pata de ulei"
- hemoragiile unghiale
- striurile transversale
- striurile longitudinale
- hiperkeratoza subunghială

Multe din modificările datorate vârstei care apar la unghiile de la picioare pot fi confundate cu psoriazisul: îngroşarea şi îngălbenirea patului unghial, striurile longitudinale şi distrofia unghială. Onicoliza poate fi secundară traumatismelor, încălţămintei inadecvate, deformărilor osoase, insuficienţei vasculare şi dermatofitozelor.

Într-un studiu recent, despre importanta atingerii unghiale în psoriazis autorii afirmă că 79% din pacienţi cu psoriazis au afectare unghială, 52% acuzând durere asociată şi 14% declara restricţie majoră în activitatea zilnică, datorită modificărilor unghiale. O alta concluzie a studiului este aceea că pacienţii cu atingere unghială dezvoltă mai frecvent atingere articulară. Astfel se poate afirma că atingerea unghială în psoriazisul artropatic este mult mai frecventă decât în celelalte forme clinice de psoriazis (3).

Alterările morfologice observate la nivelul unităţii unghiale sunt nespecifice şi nu sunt elemente de diagnostic pentru boală decât dacă sunt asociate psoriazisului cutanat al pliului unghial proximal şi lateral sau al pulpei degetului.

Rezultatul final al psoriazisului asupra celulelor matricei unghiale se manifestă prin modificarea texturii suprafeţei lamei unghiale, pe când leziunile patului unghial sunt, în general transmise prin lama unghială ca modificări de culoare sau onicoliză. Îngroşarea sau ridicarea unghiei şi hiperkeratoza subunghială rezultă din acumularea scuamelor în leziunile de psoriazis ale patului unghial sau hiponichiumului (fig. 1).

Indexul de severitatea a psoriazisului unghial (Nail Psoriasis Severity Index, NAPSI) evaluează modificari ale:

- patului unghial (0-4) - onicoliză, hemoragii în aşchie, decolorare în pată de ulei şi hiperkeratoză subunghială
- matricei unghiale (0-4) - pitting, leukonichie, pete roşii pe lunulă şi lamă unghială friabila (un semn sau toate)

Scorul NAPSI variază de la 0-8 (per unghie). Pentru toate unghiile, scorurile variază de la 0-80 (doar mâini) sau între 0-160 (şi picioare) (5,6).

Efectuarea scorului NAPSI este foarte laborioasă şi necesită foarte mult timp şi de aceea nu şi-a găsit încă locul în practica curentă. Alte metode mai rapide trebuie să fie implementate în viitor (7,8).

Tratamentul psoriazisului unghial poate fi local, sistemic, prin radioterapie sau fototerapie.

Tratamentul local se poate face cu corticosteroizi topici. Problema acestei abordări terapeutice este penetrabilitatea în zona afectată. Steroizii superpotenţi aplicaţi ocluziv timp de două săptămâni au dat rezultate, dar riscul tahifilaxiei şi al atrofiei tegumentelor periunghiale este important. Avulsia chimică a unghiei cu uree 40% ocluziv, 7 zile,in asociere cu tratament sistemic a avut o rată de succes de 50% în creşterea unei unghii normale. Corticosteroizi intralezionali - administraţi unghial şi periunghial - pot duce la rezultate promiţătoare. Dezavantajul acestei proceduri este durerea importantă. Procedura trebuie repetată la interval de 1-2 luni până se ajunge la rezultatele dorite. Chimioterapia - mecloretamina cunoscută dermatologilor ca alternativă terapeutică în limfoamele cu celule T - este eficientă şi în psoriazisul unghiilor; Administrarea 5-fluorouracilului, un alt chimioterapic aplicat topic in psoriazisul unghial, aduce posibile beneficii, dar efectele adverse sunt destul de importante (9,10,11).

Cel mai indicat tratament în psoriazisul unghial este methotrexatul, deşi administrarea lui in cazurile de psoriazis cu atingere exclusiv unghială este controversată. Beneficiile lui sunt vizibile atunci când este administrat pacienţilor cu psoriazis artropatic sau psoriazis extins şi afectare unghială concomitentă. De asemenea, retinoizii sintetici par să aibă un efect benefic asupra atingerii unghiale din psoriazis. În cazul eşecului methotrexatului şi a retinoizilor se poate încerca ciclosporina combinată cu aplicare topică de corticosteroizi superpotenţi.

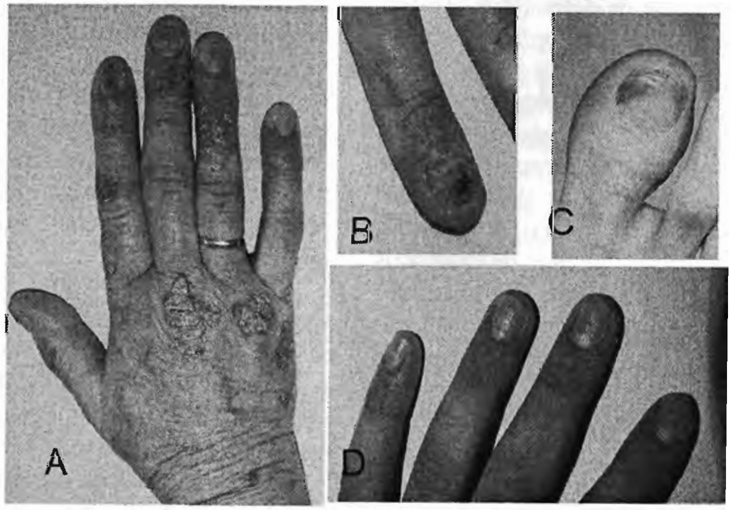


Fig. 1. Diverse aspecte de afectare unghială în psoriazis

Radioterapia superficială cu doze fracţionate de 150 cGy a dus la îmbunătăţirea afectării unghiale în psoriazis timp de 10-15 săptămâni după tratament.

Terapia cu UVB nu este eficientă în psoriazisul unghial deoarece unghia filtrează ultravioletele permiţând transmiterea unei cantităţi infime de UVB la patul unghial (asemănător unui geam din sticlă). PUVA terapia s-a dovedit a fi eficentă în terapia psoriazisului unghial dar la doze de 2-2,5 ori mai mari decât cele folosite pentru afectarea cutanată. Este necesară protejarea pielii atunci când se utilizează aceste doze mari. Riscul acestei proceduri este inducerea foto-onicolizei sau foto-hemolizei (hemoragii urmate de onicoliză) (12,13).

În ceea ce priveşte tratamentul antimicotic trebuie subliniat faptul că el îmbunătăţeşte aspectul unghial dar trebuie prescris totuşi cu precauţie deoarece substanţele antifungice cum ar fi terbinafina pot exacerba psoriazisul.

CONCLUZII

Asocierea dintre onicomicoză şi psoriazisul unghial este posibilă şi frecventă fiind probabil subdiagnosticată. Examenul micologic direct este un examen noninvaziv ce se realizează uşor, rapid şi se recomandă a fi efectuat la toţi pacienţii ce prezintă modificări unghiale sugestive pentru onicomicoză. Procesul de hiperkeratoză subunghială reprezintă un element comun din punct de vedere fiziopatologic pentru cele două afecţiuni. Reactivitatea crescută a patului unghial la procesul inflamator indus de infecţia fungică este asemănătoare modalităţii de reacţie indusă de procesul inflamator din psoriazis. Diagnosticul precoce şi terapia adecvată a oricăror modificări unghiale va avea un efect conservator protejând modificările de arhitectonică produse la nivel unghial.

Remisiunea leziunilor cutanate şi a leziunilor unghiale este obiectivul terapeutic în managementul psoriazisului moderat până la sever şi a celui artropatic, asociat sau nu cu onicomicoză. Terapia biologică asigură deocamdată cea mai eficace remisiune a psoriazisului unghial (14) şi se recomandă a fi asociată cu administrarea de antifungice sistemice în caz de infecţie fungică dovedită.

BIBLIOGRAFIE

1. Szepietowski JC, Salomon J. Do fungi play a role in psoriatic nails? *Mycoses* 2007; 50: 437 442.
2. Camisa C. *Handbook of Psoriasis*. 2nd ed. Blackwell, 2004.
3. Bologna J, Jorizzo JL, Rapini RP. *Dermatology*. 2nd ed. Mosby Inc, 2007.
4. Gonzaga HFS, Torres EA, Alchorne MMA, Gerbase-Delima M. Both psoriasis and benign migratory glossitis are associated with HLA-Cw6. *Br J Dermatol* 1996; 135: 368-370.
5. Rich P, Scher RK. Nail Psoriasis Severity Index: a useful tool for evaluation of nail psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 2003; 49: 206-212.
6. Baran RL. A nail psoriasis severity index. *Br J Dermatol* 2004; 150: 568-569.
7. Parrish CA, Sobera JO, Elewski BE. Modification of the Nail Psoriasis Severity Index. *J Am Acad Dermatol* 2005; 53: 745-746.
8. Kaçar N, Ergin S, Erdoan BS. The comparison of Nail Psoriasis Severity Index with a less time-consuming qualitative system. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2008; 22: 219-222.

9. de Jong EM, Seegers BA, Gulinck MK, Boezeman JB, van de Kerkhof PC. Psoriasis of the nails associated with disability in a large number of patients : results of a recent interview with 1,728 patients. *Dermatol* 1996 ; 193 : 300-303.
10. Gupta AK, Lynde CW, Jain HC et al. A higher prevalence of onychomycosis in psoriatics compared with non-psoriatics : a multicentre study. *Br J Dermatol* 1997 ; 136 : 786-789.
11. Gheucă Solovăstru L. *Clasic şi modern în psoriazis.* Iaşi : Ed. Junimea, 2008.
12. Cassell SE, Bieber JD, Rich P et al. The modified Nail Psoriasis Severity Index : validation of an instrument to assess psoriatic nail involvement in patients with psoriatic arthritis. *J Rheumatol* 2007 ; 34 : 123-129.
13. Piraccini BM, Tosti A, Iorizzo M, Misciali C. Pustular psoriasis of the nails : treatment and long-term follow-up of 46 patients. *Br J Dermatol* 2001 ; 144 : 1000-1005.
14. Lawry M. Biological therapy and nail psoriasis. *Dermatol Ther* 2007 ; 20 : 60-67.

NOUTĂŢI

PREVENIREA DEMINERALIZĂRILOR DENTINEI RADICULARE PRIN UTILIZAREA MATERIALELOR ADEZIVE

Frecvenţa cariei radiculare a crescut semnificativ în ultimele decenii ca urmare a creşterii duratei de viaţă şi a păstrării unui număr mai mare de unităţi dento-parodontale pe arcadă la vârste înaintate. Introducerea materialelor adezive pe bază de răşini, destinate protejării dentinei expuse prin preparări pentru incrustaţii sau coroane, par să constituie alternative eficiente ce ar putea fi utilizate pentru protecţia suprafeţelor radiculare. Patru materiale de acest tip au fost testate in vitro, pe dinţi umani extraşi, la care dentina radiculară a fost expusă prin instrumentare mecanică. Materialele testate au fost : Clearfil SE Bond (Kuraray Medical, Tokyo, Japan), Clearfil S Bond (Kuraray Medical, Tokyo, Japan), G-Bond (GC Corp., Tokyo, Japan) şi Hybrid Bond (Sun Medical, Siga, Japan). Toate materialele testate au fost sisteme adezive autogravante, primul necesitând aplicare într-un singur timp, iar celelalte fiind aplicate în doi timpi. Pentru toate materialele testate, aplicarea s-a făcut într-un singur strat, conform instrucţiunilor producătorilor, doar pentru Hybrid Bond s-au efectuat eşantioane în care aplicarea s-a făcut atât într-un singur strat cât şi în două straturi. Probele din loturile de studiu au fost stocate după hidratare în soluţie acidă tamponată (2,2 mmol/L $CaCl_2$, 2,2 mmol/L acid acetic titrat la pH 4,5 cu NaOH), timp de 3 zile la 37°C. Secţiunile au fost analizate la microscopul laser prin scanare confocală şi nanoindentaţie. Analiza statistică a rezultatelor a arătat că profunzimea media a demineralizării dentinei în absenţa adezivului a fost de 215,5μm, în timp ce la probele acoperite cu adeziv, nu s-a observat nici un fel de demineralizare cu excepţia probelor acoperite cu Hybrid Bond, aplicat într-un singur strat, la care demineralizarea a fost superficială. Duritatea înregistrată în cazul aplicării de Clearfil S Bond a fost semnificativ mai mare decât în cazul celorlalte materiale. Rezultatele demonstrează că utilizarea sistemelor adezive autogravante reprezintă o alternativă eficientă de prevenire a demineralizării dentinei radiculare expuse în urma recesiunii parodontale. Deşi rezultatele depind de materialul aplicat, aplicarea a două straturi de răşină previne complet demineralizarea. Utilizarea unor astfel de materiale care să includă fluor ar putea avea efecte benefice suplimentare de limitare a agregării biofilmului bacterian şi promovare a remineralizării (Tajima K, Nikaido T, Inoue G, Ikeda M, Tagami J. Effects of coating root dentin surfaces with adhesive materials. *Dent Mat J* 2009 ; 28 (5) : 578-586).

Gianina Iovan

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE **ARTICOLE ORIGINALE**

GENERAL ASPECTS ABOUT THE MORBIDITY IN ALZHEIMER'S DEMENTIA DURING 2003-2005 AT THE NEUROLOGY AND PSYCHIATRY CLINICAL HOSPITAL ORADEA

Andrada Iova, P. Mihancea, Monica Sabău
Oradea University
School of Medicine and Pharmacy
Neurology Department

GENERAL ASPECTS ABOUT THE MORBIDITY IN ALZHEIMER'S DEMENTIA DURING 2003-2005 AT THE NEUROLOGY AND PSYCHIATRY CLINICAL HOSPITAL ORADEA (Abstract) : This paper proposes to study some general aspects about the morbidity due to Alzheimer's dementia at the Neurology and Psychiatry Clinical Hospital Oradea. **Material and method** : The study was made based on the observation sheets of the patients with Alzheimer disease hospitalised at the Clinical Hospital of Neurology and Psychiatry Oradea, in 2003-2005. **Results** : From 34 hospitalised cases the most affected age group was that coresponded to 71 - 80 years old with 64.71% ; the women are prevalent with 64.71% ; 55.88% occurred at the rural population and 52.95% have an elementary level of education. **Conclusions** : The percentage of patients with Alzheimer's in the psychiatric section of the Clinical Hospital of Neurology and Psychiatry, in 2003-2005, was of 1%. Alzheimer's dementia is prevalent in women. The frequency of Alzheimer's disease among the rural population is bigger than the urban population and is greater at the people who have an elementary educational level. Most of the patients showed an improved general health condition when leaving the hospital. **Key words** : ALZHEIMER DEMENTIA, INDIVIDUAL VARIABLES, EPIDEMIOLOGICAL ASPECT

Within the last decade Alzheimer's disease has gone from a largely ignored and poorly understood backwater of neurology and psychiatry to the mainstream. Public recognition of the disorder grows apace, partly as a result of the growing media exposure in turn resulting from the admirable openness of many sufferers and their families and partly as a result of the growing strength of the lay societies. The medical disciplines caring for those with dementia - old age psychiatry, neurology, geriatric medicine - grow in confidence and 'dementia-ology' is no longer the Cinderella speciality it was (1).

The real epidemiologic aspects of Alzheimer's dementia are very difficult to determine because the patients come too late or never to hospital, the signs and symptoms of the disease being often related to the natural process of ageing.

This paper proposes to study :

1. The percentage of Alzheimer's dementia from all psychic disorders in the Clinical Hospital of Neurology and Psychiatry from Oradea.
2. The occurrence of this disorder according to :
   a) Age
   b) Gender
   c) Origin
   d) Level of education

TABLE I

The dimension of the specific batch

	2003		2004		01.01-30.06.2005	
Batch	Nr. of cases	Percentage %	Nr. of cases	Percentage %	Nr. of cases	Percentage %
Total	4364	99.82	4371	99.64	2065	99.52
Specific	8	0.18	16	0.36	10	0.48

e) According to the admission and readmission in hospital

f) The distribution of cases according to patients' condition at discharge from hospital

g) Aspects related to morbidity due to Alzheimer's dementia in psychiatry at the Clinical Neurology and Psychiatry Hospital in Oradea.

MATERIAL AND METHODS

This study was made to check-up the described hypothesis:

- descriptive - following more features of the population;

- passive - based on the registration in the psychiatric care;

- longitudinal - tackling Alzheimer's dementia in 2003-2005;

- practically, the study was made based on the observation sheets of the patients at the Clinical Hospital of Neurology and Psychiatry in Oradea, in 2003-2005 and it followed:

1. the diagnosis;
2. the individual variables (age, gender, level of education);
3. location variables (origin).

The research was performed on a batch of 34 cases hospitalized in the Clinical Hospital of Neurology and Psychiatry Oradea, in 2003-2005, for the Alzheimer's dementia diagnosis.

TABLE II

Distribution of the Alzheimer's cases according to age periods

Age	Nr. of cases	Percentage %
51-60 years	3	8.82
61-70 years	5	14.71
71-80 years	22	64.71
over 80 years	4	11.76

RESULTS AND DISCUSSIONS

In 2003 from 4364 hospitalized patients only 8 were diagnosed (2,3) with Alzheimer dementia. In 2004 from 4371 hospitalized patients, 16 were diagnosed with Alzheimer dementia. In 2005 (01.01-30.06) from 2065 hospitalized patients, 10 were diagnosed with Alzheimer dementia (tab. I).

The most affected age group is that corresponding to 71-80 years-old, following in decreasing order the age groups of: 61-70 years-old over 80 and 51-60 years-old (tab. II).

According to gender variable the women are prevalent - 22 females vs. 12 males.

Table III presents findings from a meta-analysis of AD prevalence using data from 11 European studies conducted in the 1990's (5,8). Rates were similar to those in an earliest overlapping analysis by Rocca et al. (1991). In the 11 reports considered by Lobo et al. (5), methods varied widely with prevalence at age 85-89 years, for example, ranging from 5 percent to 25 percent.

Rates were lower overall in the 17 Chinese reports summarized by (5,7,8) but females were at higher risk than men on both continents. In China, for instance, about 5 percent of men aged 80-84 years have AD compared with 13 percent of women. In China, rates were also higher in urban areas than rural ones.

TABLE III

Alzheimer disease prevalence using data from 11 european studies

Age	Males	Females
65-69	0.6	0.7
70-74	1.5	2.3
75-79	1.8	4.3
80-84	6.3	84
85-89	8.8	14.2
90+	17.6	23.6

TABLE IV

Finding data from four meta-analyses

	Jorm and Jolley (1998)	Gao et al. (1998)	Fratiglioni et al. (2002)	Brookmeyer et al. (1998)
Nr. of studies	23	7	8	4
Place	Europe, USA, Asia	Europe, USA	Europe	USA
Age				
65-69	3.5	3.3	1.2	1.7
70-74	7.4	8.4	3.3	3.5
75-79	15.5	18.2	9.1	7.1
80-84	32.7	33.6	21.8	14.4
85-89	68.7	53.3	35.3	29.2
90-94	144.3	72.9	-	59.5
95+	-	-	-	121.0

TABLE V

Distribution of Alzheimer' s cases according to educational level

Education level	Nr. of cases	Percentage
Elementary	18	52.95
Intermediate	12	35.29
Academic	4	11.76

Differences between groups in the prevalence of AD could stem from differences in either its incidence or duration. Incidence studies, which entail a second sweep of a population to identify new cases, are better suited to identifying causative factors, but are expensive and relatively few in number.

Next table summarizes findings from four meta-analyses (4,8,9,10,11). Incidence rose with age in all four, just as expected. Rates were somewhat higher in two and lower in the others. Incidence levelled off in extreme old age in one study (8,9) but not in another (8,10). It also decreased in a recent, well-conducted study of 5000 older people in the USA (12). Women were at increased risk in all of the three studies that specified rates by gender (tab. IV).

We can notice a greater occurrence of Alzheimer's in the rural population than in the urban one (19 cases vs. 15 cases).

The most part of patients with Alzheimer's dementia have an elementary level of education (tab. V).

TABLE VI

Treatment

Aricept	Cipralex	Alprazoloam	Piracetam
Ebixa	Mianserină	Diazepam	Vitamina E
Excelon	Serlift	Nitrazepam	Ginkgo-Biloba
	Xeroxat	Oxazepam	
	Zoloft	Anxiar	
	Haloperidol	Tranxene	
	Rispolept	Xanax	
		Fenobarbital	
		Hidroxizin	

A 53% percent of the patients have a big hospitalization history, and 47% of the patients are for the first time hospitalized in the psychiatric section.

Among the reasons for hospitalization, symptoms, and the most frequent sings are the following:

- decrease of fixation and evocation memory
- hipoprosexia
- temporal and spatial disorientation
- significant decrease of operational and synthesis thinking abilities
- insomnia
- aphasia
- apraxy
- agnosia
- agitation
- delusions (fear of harm, spousal affair)
- aggression
- hallucinations.

Studying the medical records in the Clinical Hospital of Neurology and Psychiatry Oradea, we noticed that the drug treatment was a complex one (tab. VI).

Among the 34 patients with Alzheimer's dementia 11 were treated with Aricept, 4 patients with Ebixa and 19 with Exelon.

A percentage of 88.2% of the patients had an improved general condition upon discharge and 11.8% a stable general health condition.

CONCLUSIONS

The study of the hospitalized psychiatric patients in the Clinical Hospital of Neurology and Psychiatry Oradea, diagnosed with Alzheimer's dementia, led to the following conclusions:

1. The percentage of patients with Alzheimer's in the psychiatric section of the Clinical Hospital of Neurology and Psychiatry, in 2003-2005, was of 1%.
2. Alzheimer's dementia is more prevalent at women, with a percentage of 64.71%, as opposed to 35.29% at men.
3. The most affected age group is that of 71-80 years-old patients, followed in decreasing order by the age groups of 61-70 years-old, over 80 and 51-60 years-old patients.
4. The frequency of Alzheimer's disease among the rural population is with 11.76% bigger than the urban population.
5. According to the educational level a greater frequency was noticed at the people who have an elementary level.
6. According to the rate of admissions and readmissions in the psychiatric section, the readmissions are with 8% more than the admissions for the first time.
7. The observation sheets have shown that according to the diagnosis a complex and appropriate drug treatment was used.
8. The observation sheets have also shown that, after the drug treatment, 30 from the 34 studied cases, showed an improved general health condition when leaving the hospital.
9. There were not any deceased patients during the stay in hospital.

REFERENCES

1. Lovestone S, Gauthier S. *Management of Dementia*. Martin Dunitz Ltd., 2001, 121-154;
2. *** *ICD 10. Calsificarea tulburărilor mentale şi de comportament*. Bucureşti: Ed. ALL, 1998.
3. *** *DSM IV TR 2000. Manual de diagnostic şi statistica a tulburărilor mentale*. Bucureşti: Asociaţia Psihiatrilor Liberi din România, 2003.
4. Brookmeyer R, Gray S, Kawas C. Projections of Alzheimer's disease in the United States and the public health impact of delaying disease onset. *Am J Public Health* 1998; 88: 1337-1342.
5. Lobo A, Launer LJ, Fratiglioni L et al. Prevalence of dementia and major sub-types in Europe: a collaborative study of population-based cohorts. *Neurol* 2000; 54 (suppl. 5): S4-9.
6. Ropper AH, Brown RH. *Adams and Victor's Principles of Neurology*. 8th ed. McGraw-Hill Companies, 2005, 522-523, 898-906.
7. Liu L, Guo XE, Zhou YQ, Xia JL. Prevalence of dementia in China. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders* 2007; 15: 226-230.
8. Burns A, O'Brien J, Ames D. *Dementia*. 3rd ed. Londra; Edward Arnold Ltd, 2005, 16-24.
9. Gao S, Hendrie HC, Hall KS, Hui S. The relationships between age, sex and the incidence of dementia and Alzheimer disease: a meta-analysis. *Arch Gen Psychiatry* 1998; 55: 809-815.
10. Jorm AF, Jolley D. The incidence of dementia: a meta-analysis. *Neurol* 1998; 51: 728-733.
11. Fratiglioni L, Launer LJ, Anderson K et al. Incidence of dementia and major sub-types in Europe: a collaborative study of population-based cohorts *Neurol* 2000; 54 (suppl. 5), S10-15.
12. Miech RA, Breitner JCS, Zandi PP et al. Incidence of AD may decline in the early 90s for men, later for women. *Neurol* 2002; 58: 209-218.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi – 2009 – vol. 113, nr. 4

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE **ARTICOLE ORIGINALE**

INFECŢIA CU *HELICOBACTER PYLORI* LA COPIII CU BOALĂ CELIACĂ

Silvia Ghimpu[1], Laura Bozomitu[1], E. Cârdei[1], Carmen Oltean[1], M. Burlacu[1], Dana Anton[1], Laura Trandafir[1], Doina Mihăilă[2], D. Moraru[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Clinica a III-a Pediatrie
Spitalul de Clinic de Urgenţă pentru Copii "Sf. Maria" Iaşi
2. Laboratorul de Anatomie patologică

HELICOBACTER PYLORI INFECTION IN CHILDREN WITH CELIAC DISEASE (Abstract): The purpose of this study is to evaluate symptomatology, endoscopic and histopathologic changes of *Helicobacter pylori* infection and gastritis lesions without *Helicobacter pylori* infection on children diagnosed with celiac disease. **Material and method**: 15 children under gluten- free diet were selected and, because of the recurrence of the dyspeptic syndrome, an upper digestive endoscopy associated with histopathologic exam was performed. Considering the histopathologic result we made two groups: first group (8 children with celiac disease and Helicobacter pylori infection) and second group (7 children with celiac disease without Helicobacter pylori infection, but associated with gastritis lesions). **Results**: The main symptom was diffuse abdominal pain in both groups. The endoscopic antrum aspects were congestive with striped aspect (first group - 12.5%, second group - 42.9%) and congestive with nodulation (first group - 25%, second group - 14.3%). The histopathologic diagnosis were: moderate active chronic pangastritis (first group - 25%, second group - 14.3%) moderate active chronic gastritis (first group - 25%,second group - 14.3%), lymphocytic gastritis (first group - 12.5%, second group - 14.3%). **Conclusion**: The histopathologic exam remains the gold standard for celiac disease, gastritis lesions and Helicobacter pylori infection. **Key words**: HELICOBACTER PYLORI, CELIAC DISEASE, LYMPHOCYTIC GASTRITIS

Boala celiacă este o enteropatie gluten sensibilă, definită ca un răspuns imun exagerat al mucoasei, la proteinele din gluten, apărut la indivizii cu predispoziţie genetică, tradusă histologic prin atrofia vilozităţilor intestinale şi hiperplazia criptelor. *Helicobacter pylori (H. pylori)* este un agent etiologic frecvent al gastritei cronice ce poate fi asociat cu boala celiacă.

Scopul lucrării a fost să evaluăm simptomatologia, modificările endoscopice şi anatomopatologice ale infecţiei cu *H. pylori* precum şi leziunile de gastrită în absenţa infecţiei cu *H. pylori* la copiii diagnosticaţi cu boală celiacă.

MATERIAL ŞI METODĂ

Am efectuat un studiu cu 15 copii (8 cazuri de sex feminin, 7 cazuri de sex masculin) selectaţi din 46 de copii diagnosticaţi cu boală celiacă aflaţi la regim fără gluten în Clinica a III-a Pediatrie în perioada 01.01. 2002-03.01 2008. Datorită recurenţei sindromului dispeptic (disconfort abdominal, dureri abdominale, distensie abdominală, saţietate precoce, inapetenţă, regurgitaţii) la aceştia s-a reluat endoscopia digestivă superioară asociată cu examenul anatomopatologic. În funcţie de rezultatul anatomopatologic copiii au fost repartizaţi în două loturi: lotul I - 8 cazuri (copii cu boală celiacă asociată cu infecţie cu *H. pylori*) şi lotul II - 7 cazuri (copii cu boală celiacă fără infecţie cu *H. pylori*, dar asociată cu leziuni de gastrită).

Pentru stabilirea diagnosticului de infecţie cu *H. pylori*, ca tehnică de referinţă s-a utilizat endoscopia digestivă superioară efectuată cu fibroscopul Pentax, în cursul căreia s-au recoltat biopsii (în număr de 4) din diferite zone ale stomacului, în particular de la nivelul antrului gastric, care au permis detectarea microorganismului şi eventualelor leziuni gastrice.

Modificările endoscopice şi anatomopatologice la copiii cu boală celiacă cu infecţie cu *H. pylori* (lotul I) au fost comparate cu cele ale copiilor cu boală celiacă fără infecţie cu *H. pylori*, dar cu aspect de gastrită (lotul II).

În boala celiacă asociată cu infecţia cu *H. pylori* am utilizat terapia de eradicare a bacteriei.

REZULTATE

a) În ceea ce priveşte mediul de viaţă în lotul I a predominat mediul urban (87,5% - 7/8 cazuri), ca şi la lotul II (71,4% - 5/7 cazuri). Testul statistic χ^2 aplicat celor două loturi a relevat faptul că există diferenţe semnificative între cele două loturi după mediul social (χ^2=5,400; p=0,020), infecţia cu *H. pylori* la copiii cu boală celiacă a fost predominantă în mediul urban.

b) Vârsta medie a pacienţilor în lotul I a fost de 93,25 luni (7 ani şi 9 luni), cu vârsta cuprinsă între de 3 ani şi 7 luni şi 16 ani; în lotul II vârsta medie a pacienţilor a fost de 96,86 luni (8 ani şi o lună), cu vârsta cuprinsă între 3 ani şi 9 luni şi 16 ani. Testul statistic *t Student* aplicat celor două loturi a relevat faptul că nu există diferenţe semnificative între cele două loturi după variabila vârstă (t = -0,138; p = 0,423), infecţia cu *H. pylori* la copiii cu boală celiacă se regăseşte la toate categoriile de vârstă.

c) Au predominat copiii de sex feminin în lotul I (6/8 cazuri), iar în lotul II copii de sex masculin (5/7 cazuri). Variabila sex nu a influenţat boala (χ^2 = 0,067; p = 0,796), infecţia cu *H. pylori* la copiii cu boală celiacă s-a întâlnit mai frecvent la fete.

d) În lotul I simptomele clinice au fost următoarele: durerea abdominală difuză (100%), durerea abdominală predominant epigastrică (50%), urmată de inapetenţă (25%), greaţă (25%), vărsături (25%) şi distensie abdominală (12,5%). În lotul II ierarhia simptomelor a fost următoarea: durerea abdominală difuză (100%), inapetenţă (57,1%), durerea abdominală predominant epigastrică (42,9%) urmată de greaţă şi vărsături în 28,6% cazuri (tab. I).

S-a observat că simptomul dominant în ambele loturi a fost durerea abdominală difuză. Cu excepţia distensiei abdominale, care s-a relevat în lotul I şi a lipsit în lotul II, la celelalte simptome nu au existat deosebiri statistice semnificative între cele două loturi.

e) Endoscopia digestivă superioară a evidenţiat leziuni de gastrită în 13 cazuri, 1 caz a fost diagnosticat cu gastrită prin serologie pozitivă pentru *H. pylori* deoarece părinţii au refuzat efectuarea endoscopiei.

Aspectele endoscopice ale antrului gastric în cele două loturi nu au relevat diferenţe semnificative: normal la endoscopie (37,5% în lotul I; 28,6% în lotul II), antrul congestiv (25% în lotul I; 14,3% în lotul II), antrul congestiv cu noduli în formare (25% în lotul I; 14,3% în lotul II). Singura diferenţă semnificativă a existat în cazul antrului congestiv cu aspect tigrat, prezent în 12,5%/ (1 caz) în lotul I şi în 42,9% (3 cazuri) în lotul II (tab. II).

Diagnosticul endoscopic în lotul I a fost de gastrită cronică antrală formă uşoară - 3/8 cazuri (37,5%), gastrită cronică antrală macronodulară - 1/8 cazuri (25%), gastrită cronică micronodulară - 1/8 cazuri (25%). În lotul II s-a evidenţiat gastrita cronică antrală - 5/7 cazuri (71,4%), gastrită cronică antrală macronodulară - 1/7 cazuri (14,3%).

TABELUL I

Simptome clinice existente

Simptome clinice	Lotul I (8 cazuri)		Lotul II (7 cazuri)	
	Număr	Frecvenţă	Număr	Frecvenţă
Inapetenţă	2	25%	4	57,1%
Durere abdominală	8	100%	7	100%
Epigastralgii	4	50%	3	42,9%
Greaţă şi vărsături	2	25%	2	28,6%
Distenie abdominală	1	12,5%	-	-

TABELUL II

Aspecte ale antrului gastric în descrierea endoscopică la cele 2 loturi

Aspect endoscopic al antrului	Lotul I (8 cazuri)		Lotul II (7 cazuri)	
	Nr. cazuri	Procent (%)	Nr. cazuri	Procent (%)
Normal	3	37,5	2	28,6
Congestiv	2	25	1	14,3
Congestiv cu aspect tigrat	1	12,5	3	42,9
Congestiv cu noduli în formare	2	25	1	14,3

TABELUL III

Ponderea celor 5 aspecte histologice depistate la examenul anatomopatologic al lotului I şi lotului II

Aspect histologic	Lotul I (8 cazuri)		Lotul II (7 cazuri)	
	Nr. cazuri	Procent (%)	Nr. cazuri	Procent (%)
Moderat infiltrat limfoplasmocitar in antru	2	25%	3	42,9%
Folicul limfoid in antru	4	50%	1	14,3%
Discret infiltrat inflamator in antru	2	25%	2	28,6%
Moderat infiltrat limfocitar in antru	1	12,5%	1	14,3%
Eozinofile	1	12,5%	1	14,3%

Examinare microscopică a frotiului cu proba de la biopsia gastrică folosind colorația Gram cu fucsină, testul ureazei şi examenul anatomopatologic au evidenţiat *H. pylori* în 50% din cazuri.

f) Examenul anatomopatologic a arătat următoarele aspecte histologice în lotul I: 1) moderat infiltrat inflamator limfoplasmocitar (25%); 2) minim infiltrat inflamator limfoplasmocitar (25%); 3) foliculi limfoizi în antru (50%); 4) eozinofile (12,5%); 5) moderat infiltrat limfocitar (12,5%) (tab. III). Aspectele histologice în lotul II au fost următoarele: 1) infiltrat inflamator limfoplasmocitar minim (28,6%); 2) moderat infiltrat inflamator limfoplasmocitar (42,9%); 3) foliculi limfoizi (14,3%); 4) eozinofile (14,3%); 5) moderat infiltrat limfocitar (14,3%) (tab. III).

Diagnosticul anatomopatologic (fig. 1, fig. 2 - imagini oferite de Secţia de Anatomie patologică a Spitalului Clinic de Urgenţă pentru Copii "Sf. Maria" Iaşi) a fost în lotul I de: pangastrită cronică moderat activă la 2/8 cazuri (25%), gastrită cronică moderat activă la 2/8 cazuri (25%), gastrită cronică antrală uşor activă la 2/8 cazuri (25%), gastrită limfocitară la 1/8 cazuri (25%).

Diagnosticul anatomopatologic în lotul II a fost de pangastrită cronică moderat activă la 1/7cazuri (14,3%), gastrită cronică moderat activă la 1/7 cazur i(14,3%), gastrită cronică antrală formă uşor activă la 2/7 cazuri (28,6%), gastrită limfocitară la 1/7cazuri (14,3%) şi gastrită cronică antrală şi fundică la 1/7 cazuri (14,3%)(fig. 1).

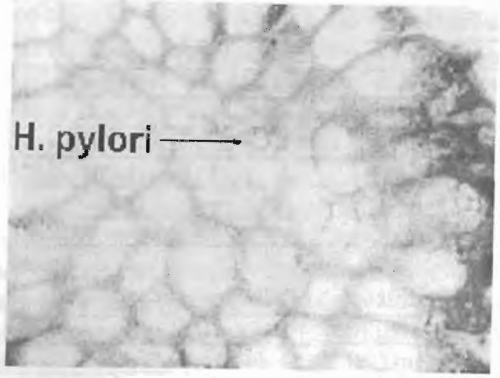


Fig. 1. *H. pylori* colorație Giemsa lent × 1000

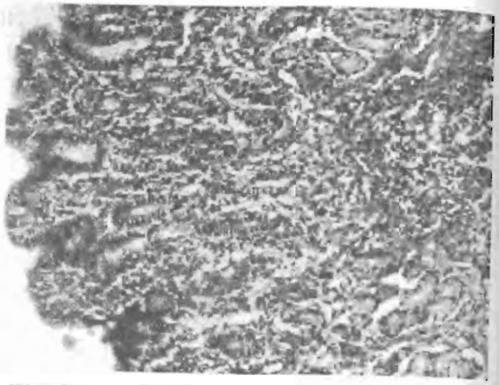


Fig. 2. Aspect de gastrită limfocitară HE × 100

Copiii din lotul I au primit terapie de eradicare a *H. pylori* cu amoxicilină – 40 mg/kgc/zi, claritromicina 15 mg/kgc/zi - 7 zile, omeprazol 0,3-3,3 mg/kgc/zi 6 săptămâni. Copiii din lotul II au primit tratament cu inhibitori de pompă de protoni (0,3-3,3 mg/kgc/zi /4-6 săptamâni).

DISCUȚII

Boala celiacă se poate asocia cu gastrita cronică. *H. pylori* este un agent etiologic frecvent al gastritei cronice ce poate fi asociată cu boala celiacă (1,2,3,4). Simptomul dominant în ambele loturi a fost durerea abdominală difuză, prezentă în toate cazurile. Cu excepția distensiei abdominale, prezentă în lotul I și absentă în lotul II, la celelalte simptome (inapetență, greață, vărsături) nu există deosebiri statistice semnificative între cele două loturi.

La lotul studiat examenul anatomopatologic a relevat două cazuri de gastrită limfocitară (1 caz în lotul I; 1 caz în lotul II). Date din literatura de specialitate susțin că gastrita limfocitară este asociată cu boala celiacă și infecția cu *H. pylori* (5,6).

În mod normal la nivelul stomacului limfocitele intraepiteliale sunt în număr de 4-7/100 de celule epiteliale. Gastrita limfocitară se definește prin prezența a mai mult de 25 de limfocite intraepiteliale/100 de celule epiteliale (4,7,8,9,10). Câțiva autori au sugerat că aceasta poate reprezenta un răspuns imun idiosincrazic la un antigen local cum ar fi *H. pylori*, deși relația dintre ele nu este clară (6,7,8).

Comparativ cu un studiu efectuat de De Giacomo et al., care a relevat gastrita limfocitară la 9 din 25 de copii (36%) cu boală celiacă, în studiul nostru s-au evidențiat 2 cazuri de gastrită limfocitară din 15cazuri (13,33%). S-a dovedit în multe cazuri că gastrita limfocitară este asociată cu infecția cu *H. pylori* și că eradicarea ei determină reducerea infiltratului limfocitar intraepitelial și simptomele dispeptice. Relația patogenică între boala celiacă, *H. pylori* și gastrita limfocitară este dificil de diferențiat datorită faptului ca există date care susțin că *H. pylori* atenuează leziunile de duodenită cronică în boala celiacă (3,11). Examenul anatomopatologic a descris foliculi limfoizi la 4 cazuri din lotul I comparativ cu lotul II (1 caz). Unele date din literatură susțin că agregatele limfoide sunt în particular o caracteristică a infecției cu *H. pylori* (12).

Probabil din cauza gradelor variate ale prevalenței *H. pylori* în populația studiată, mai multe studii în legătură cu relația între boala celiacă și infecția cu *H. pylori* au avut rezultate contradictorii (13,14,15).

Conform altui studiu efectuat pe două loturi de copii din Turcia (un lot cu boală celiacă și al doilea fără boală celiacă) s-a arătat că boala celiacă poate fi asociată cu gastrita cu *H. pylori*, dar nu agravează manifestările clinice (excepție făcând distensia abdominală) (3). În lotul I din studiul nostru terapia de eradicare a infecției cu *H. pylori* a ameliorat simptomatologia clinică. De asemenea, s-au evidențiat leziuni de duodenită cronică moderată în studiul nostru comparativ cu alte studii care arată leziuni ușoare la nivelul duodenului (3). Sunt necesare studii prospective care să analizeze dacă gastrita cauzată de infecția cu *H. pylori* la pacienții cu boala celiacă va determina metaplazie gastrică (16). Rămâne de demonstrat pe viitor dacă infecția cu *H. pylori* precede boala celiacă, sau dacă boala celiacă este consecința infecției cu *H. pylori*.

CONCLUZII

Boala celiacă se poate asocia cu infecția cu *H. pylori* și cu leziuni de gastrită nespecifică. Infecția cu *H. pylori* la copiii cu boală celiacă este predominantă în mediul urban și se regăsește la toate categoriile de vârstă. Simptomul clinic dominant a fost durerea abdominală difuză (100%). Endoscopia digestivă superioară efectuată a evidențiat leziuni de gastrită la majoritatea cazurilor (13/15 cazuri), acestea fiind sub formă de gastrită cronică antrală care a predominat în cele două loturi(37,5% lotul I; 71,42% lotul II).

Examenul anatomopatologic rămâne *gold standard*-ul de diagnostic pentru boala celiacă, cât și pentru leziunile de gastrită și infecția cu *H. pylori*. Sunt necesare studii prospective care să analizeze dacă gastrita cauzată de infecția cu *H. pylori* la pacienții cu boala celiacă va determina metaplazie gastrică.

BIBLIOGRAFIE

1. Bardell MT, Minoli G, Ravizza D et al. Increased prevalence of celiac disease in patients with dyspepsia, *Arch Intern Med* 2000 ; 160 : 1489-1491.
2. Santarelli L, Gabrielli M, Santoliquido A et al. Interaction between Helicobacter pylori infection and untreated coeliac disease on gastric histological pattern. *Scand J Gastroenterol* 2006 ; 41 (5) : 532-535.
3. Broide E, Sandbank J, Scapa E, Kimchi NA, Shapiro M, Lerner A. The immunohistochemistry profile of lymphocytic gastritis in celiac disease and Helicobacter pylori infection : interplay between infection and inflammation. *Mediators Inflamm* 2007 : 818-838.
4. Luzza F, Mancuso M, Imeneo M et al. Helicobacter pylori infection in children with celiac disease : prevalence and clinicopathologic features. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999 ; 28 (2) : 143-146.
5. Hayat M, Arora DS, Dixon MF, Clark B, O'Mahony S. Effects of Helicobacter pylori eradication on the natural history of lymphocytic gastritis. *Gut* 1999 ; 45 (4) : 495-498.
6. Feeley KM, Heneghan MA, Stevens FM, McCarthy CF. Lymphocytic gastritis and coeliac disease : evidence of a positive association. *J Clin Pathol* 1998 ; 51 (3) : 207-210.
7. Drut R, Drut RM. Lymphocytic gastritis in pediatric celiac disease : immunohistohistochemical study of the intraepithelial lymphocytic component. *Med Sci Monit* 2004 ; 10 (1) : CR 38-42.
8. S Cucchiara, O Borrelli. Other gastritides. In : *Textbook of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. London, New York : Taylor and Francis, 2004, 95-113.
9. Niemelä S, Karttunnen T, Kerola T, Karttunnen R. Ten year follow up study of lymphocytic gastritis : further evidence on Helicobacter pylori as cause of lymphocytic gastritis and corpus gastritis. *J Clin Pathol* 1995 ; 48 (12) : 1111-1116.
10. Oberhuber G, Bodingbauer M, Mosberger I, Stolte M, Vogelsang V. High proportion of granzyme B-positive(activated) intraepithelial and lamina propria lymphocytes in lymphocytic gastritis. *Am J Surg Pathol* 1998 ; 22 (4) : 450-458.
11. Lefrancois L, Puddington L. Basic aspects of intraepithelial lymphocytic immunobiology. In : Ogra PL, Mestecky J, Lamm ME editors. *Mucosal Immunology*. San Diego, Calif, USA : Academic Press, 1990, 413 428.

12. Bedoya A, Garay J, Sanzon F et al. Histopathology of gastritis in Helicobacter pylori-infected children from population at high and low gastric cancer risk. *Human Pathol* 2003 ; 34 (3) : 206-213.
13. Dewar DH, Ciclitira PJ. Clinical features and diagnosis of celiac disease. *Gastroenterol* 2005 ; 28 (4) 1 : S19-24.
14. De Giacomo C, Gianatti A, Negrini R et al. Lymphocytic gastritis : a positive relationship with celiac disease. *J Ped* 1994 ; 124 (1) : 57-62.
15. Mourad-Baars P, Verspaget Hein W, Mertens Bart JA, Luisa Mearin M. Low prevalence of Helicobacter pylori infection in young children in the Netherlands. *Eur J Gastroenter Hepatol* 2007 ; 19 (3) : 213-216.
16. Aydogdu S, Cakir M, Yuksekkaya HA et al. Helicobacter pylori infection in children with celiac disease. *Scand J Gastroenterol* 2008 ; 43 (9) : 1088-1093.

NOUTĂŢI

UTILIZAREA TERAPIEI GENICE IN TRATAMENTUL IMUNODEFICIENŢEI DATORATE DEFICITULUI DE ADENOZIN DEAMINAZĂ

Deficitul de adenozin deaminază (ADA) este o formă de imunodeficienţă severă cu transmitere autosomal recesivă. Studiul de faţă demonstrează că tratamentul imunodeficienţei datorate deficitului de ADA prin chimioterapie non-mieloablativă, urmată de infuzia de celule stem autologe hematopoetice s-a soldat cu rezultate foarte bune, fără a se înregistra efecte adverse pe perioada de urmărire (cu o mediană de patru ani). Din cei zece pacienţi care au fost trataţi, la nouă s-a obţinut o restaurare a funcţiei imune şi protecţie împotriva infecţiei. Menţinerea expresiei ADA în celulele hematopoetice permite detoxifierea metaboliţilor purinelor şi îmbunătăţirea stării pacienţilor. Protocolul utilizat, în contrast cu cele descrise anterior, a permis obţinerea unor rezultate excelente, fără complicaţii serioase, ca de exemplu rejetul grefei. Rezultatele obţinute cu terapia genică non-mieloablativă este o opţiune ce trebuie a fi luată în consideraţie. In combinaţie cu măsuri complementare, acest tratament poate fi utilizat şi în alte afecţiuni congenitale ale sistemului hematopoetic (Aiuti A, Cattaneo F, Galimberti S et al. Gene therapy for immunodeficiency due to adenosine deaminase Deficiency. *N Engl J Med* 2009 ; 360 : 447-458).

Elena Cojocaru

TRISOMIA XYY - CAUZĂ DE INFERTILITATE MASCULINĂ

El-Dahtory şi Elsheikha au analizat retrospectiv un lot de 132 de bărbaţi cu sterilitate, care au fost investigaţi în Spitalul Academic al Universităţii din Mansoura Egipt. La toţi pacienţii a fost efectuată ancheta familială şi a fost realizat examenul fizic pentru a exclude cauze anatomice. De asemenea, au fost efectuate teste hormonale (FSH, LH, testosteron) şi explorarea microbiologică a urinei şi lichidului seminal. Toţi pacienţii au beneficiat de examen cromosomic clasic cu marcaj de tip G şi de explorare prin tehnica FISH pentru evidenţierea gonosomilor X şi Y. Autorii au identificat 4 persoane cu cariotip 47,XYY şi anomalii de spermatogeneză (oligo- sau azoospermie). Nivelul testosteronului a variat de la scăzut la normal, în timp ce hormonii gonadotropi au avut valori de la normal la crescut. Toţi cei 4 bărbaţi au fost descendenţii unor cupluri consanguine. În discuţii, cei 2 cercetători au relevat că trisomia XYY este mai frecvent depistată la bărbaţii cu tulburări de reproducere, dar că anomalia, de obicei, nu cauzează sterilitate. O posibilă explicaţie a sterilităţii la cele 4 cazuri prezentate în acest articol ar putea fi corelată cu prezenţa consanguinităţii, dar sunt necesare studii suplimentare pentru a clarifica această problemă (El-Dahtory F, Elsheikha HM, Male infertility related to an aberrant karyotype 47,XYY : four case reports. *Cases J* 2009 ; 2 : 28-31).

E.V. Gorduza

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE **ARTICOLE ORIGINALE**

MANIFESTĂRI RESPIRATORII LA COPIII CU TOXOCAROZĂ SPITALIZAŢI ÎN PERIOADA 2005-2008

Roxana-Gabriela Bahnea[1], Ingrid Cojocaru[2], Carmen Rîpă[3], Mihaela Cătălina Luca[4], A. Ivan[5], Mariana Luca[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie"Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Disciplina de Parazitologie
2. Disciplina de Endocrinologie
3. Disciplina de Medicină de Familie
4. Clinica de Boli Infecţioase
5. Disciplina de Asistenţă Primară a stării de Sănătate şi Epidemiologie

TOXOCARIASIS RESPIRATORY MANIFESTATIONS IN CASES HOSPITALIZED IN THE PAEDIATRIC DISEASES CLINIC OF IAŞI, BETWEEN 2005-2008 (Abstract) : The authors present the results of retrospective epidemiological, clinical and laboratory diagnosis on toxocariasis cases hospitalized in the Pediatric Diseases Clinic of Iaşi, between January 2005-June 2008. **Material and method** : The study included a number of 228 children. **Results** : Respiratory manifestations were present in 184 children : 105 boys (46.05%) and 79 girls (34.64%), with a slight advance of the rural environment (44.29%). The age distribution highlighted a predominance of 1-5 years of age (65.76%). Respiratory manifestations were fever, coughing, wheezing, asthma, infections of respiratory pathways, pneumonia. The distribution of toxocariasis in children patients in Moldavia, Romania, highlighted a predominance in Iaşi. The children with respiratory manifestations had hypereosinophilia associated with hyperleucocytosis. All the patients were serologically confirmed with toxocariasis. The children responded well to treatment with albendazole. **Key words** : PARASITOSIS, TOXOCARA, HUMAN TOXOCARIASIS, RESPIRATORY MANIFESTATIONS

Toxocaroza este o infecţie produsă de un parazit din genul *Toxocara*, familia *Ascarididae*, de obicei *Toxocara canis* şi mai rar *Toxocara cati*. Parazitul adult trăieşte la câine, *Toxocara canis*, respectiv la pisică, *Toxocara cati* (1,2,3).

Modul cel mai des întâlnit de infectare îl constituie ingestia ouălor prezente în sol şi pe vegetale. Ouăle de *Toxocara canis* apar în mod continuu în mediul înconjurător. Numărul celor infectaţi variază în funcţie de frecvenţa expunerii la contaminare, profilul solului şi gazonului şi permeabilitatea la apă a acestora. Copiii sunt cei mai expuşi la infectare datorită obiceiurilor geofage şi introducerii diferitelor obiecte în gură (4,5).

Răspândirea ouălor este posibilă prin ploi, vânt, mişcarea animalelor şi a oamenilor, pe distanţe mari în raport cu locul de depunere. Ele pot fi găsite pe străzi, în parcuri, în grădini. Copilul se poate infecta fără a avea contact direct cu un câine. Toxocaroza viscerală se întâlneşte, tipic, la copiii mici care, nesupravegheaţi, manifestă pica, care se joacă în parcuri şi pe străzi contaminate cu ouă de paraziţi provenind de la căţeii bogat infectaţi (6).

Exprimarea clinică depinde de numărul de ouă ingerate, de numărul şi frecvenţa infecţiilor, de distribuţia larvei în ţesuturi, de reactivitatea gazdei (7,8,9).

Manifestările respiratorii se prezintă sub formă de tuse, dispnee, exacerbarea crizelor de astm bronşic, imagini radiologice cu aspect congestiv, infiltrativ şi migrator (10, 11,12).

MATERIAL ŞI METODĂ

Studiul retrospectiv efectuat în perioada ianuarie 2005- iunie 2008, a cuprins un lot de 228 copii diagnosticaţi cu toxocaroză, monitorizaţi clinic, biologic şi terapeutic în Clinica de Pediatrie, Spitalul Clinic de Urgenţă pentru copii "Sf. Maria'' Iaşi.

Lucrarea are drept scop evidenţierea aspectelor respiratorii înregistrate la copiii internaţi.

Studiind internările clinicii am reuşit să constituim un eşantion reprezentativ statistic, care să ne ofere concluzii pertinente, deoarece, în general, concentrează patologia specifică din Moldova. În cadrul studiului s-au urmărit aspectele epidemiologice, clinico-biologice şi ale evoluţiei sub tratament.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Din cei 228 copii care au format lotul de studiu, 184 copii au prezentat manifestări respiratorii (80,70%). Aceste manifestări au fost prezente la un număr de 105 băieţi (46,05%) şi 79 fete (34,64%), remarcându-se o preponderenţă a sexului masculin.

În ce priveşte repartiţia pe medii de provenienţă se remarcă o pondere mai mare a bolnavilor provenind din mediul rural, un număr de 101 copii (44,29%), faţă de cei din mediul urban, 83 copii (36,40%).

Principala cauză de îmbolnăvire o reprezintă contactul cu câinele, urmată de fenomenul pica, explicându-se prin faptul că un număr mare de copii provin din mediul rural unde contactul cu căţeluşii şi cu sol contaminat cu ouă de *Toxocara canis* este mai ridicat.

În ce priveşte repartiţia cazurilor pe grupe de vârstă, grupa 1-5 ani a fost cea mai afectată cu câte 121 cazuri (65,76%). Din cele 184 cazuri cu manifestări respiratorii, diagnosticul a fost precizat în 44 cazuri (23,91%) la grupa de vârstă 6-10 ani, la grupa de vârstă 11-15 ani, 16 cazuri (8,69%) şi 3 cazuri la copiii cu vârstă mai mare de 16 ani. Vârsta sugarului nu a înregistrat nici un caz.

Manifestările respiratorii apar cel mai frecvent ca : tuse, la 171 copii (75%), febră la 127 copii (55,70%), *wheezing* recurent si dispnee. Tusea este primul semn clinic instalat, care la majoritatea copiilor spitalizaţi rămâne seacă, iritativă, pentru ca la un număr mai mic de copii să devină productivă.

În cadrul toxocarozei au fost prezente următoarele afecţiuni respiratorii: pneumonii la 79 copii (42,93%), infecţii de căi respiratorii repetate, la 64 copii (34,78%), astm bronşic la 88 copii (47,82%).

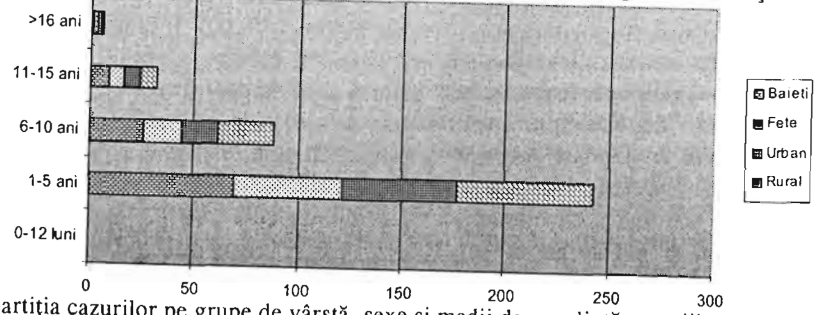


Fig. 1. Repartiţia cazurilor pe grupe de vârstă, sexe şi medii de reşedinţă a copiilor cu toxocaroză ce prezintă manifestări respiratorii

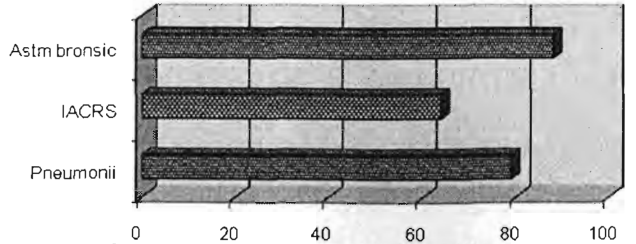


Fig. 2. Afecţiuni respiratorii prezente la copiii cu toxocaroză

Diagnosticul a fost stabilit pe criterii clinice, examene paraclinice şi serologice, prin evidenţierea anticorpilor specifici. La copiii cu manifestări respiratorii s-a observat o hiper-eozinofilie asociată cu hiperleucocitoză şi o creştere a Ig E. Examenul serologic specific s-a efectuat prin tehnica ELISA şi s-au evidenţiat în serul pacienţilor titruri crescute de Ac anti-Toxocara. La radiografia toracică s-au observat infiltrate difuze, heterogene, fugace.

CONCLUZII

În perioada ianuarie 2005- iunie 2008, în Clinica de Pediatrie Iaşi au fost internaţi 228 copii cu toxocaroză din zona Moldovei. Manifestările respiratorii au fost prezente la 184 copii, cu predominanţa sexului masculin (46,05%), cu un avans al mediului rural (44,29%) şi a cazurilor cu vârste cuprinse între 1-5 ani (65,76%). Manifestările respiratorii au fost prezente sub formă de tuse, dispnee, febră. Toxocaroza a fost asociată cu pneumonii, infecţii de căi respiratorii, astm bronşic. Tratamentul a fost efectuat cu Albendazol iar evoluţia a fost favorabilă.

Prevenirea infectării copiilor este bazată pe respectarea regulilor generale de igienă şi tratarea câinilor şi pisicilor purtătoare de paraziţi.

BIBLIOGRAFIE

1. Steriu D. *Infecţii parazitare*. Bucureşti : Ed. Ilex, 2003, 226-229.
2. Pecinali NR, Gomes RN, Amendoeira FC et al. Influence of murine *Toxocara canis* infection on plasma and bronchoaveolar lavage fluid eosinophil numbers and its correlation with cytokine levels. *Vet Parasit* 2005 ; 134 : 121-130.
3. Roldan WH, Espinoza YA, Antuncar A, Ortega E, Martinez A, Saravia M. Frequency of eosinophilia and risk factors and their association with Toxocara infection in schoolchildren during a health survey in the north of Lima, Peru. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2008 ; 50 (5) : 273-278.
4. Garcia-Pedrique ME, Diaz-Suarez O, Estevez J. Prevalence of infection by Toxocara in schoolchildren in the community of El Mojan, Zulia State, Venezuela. *Invest Clin* 2004 ; 45 : 347-354.
5. Finsterer J, Auer H. Neurotoxocarosis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2007 ; 49 (5) : 279-287.
6. Coşoroabă I, Chiţimia L. Larva migrans. *Scientia Parasitologica* 2005 ; 1-2 : 9-20.
7. Goţia S, Caşcaval G. Toxocaroza la copil. *Viaţa medicală* 2006 ; 5 : 7.
8. Despommier D. Toxocariasis : clinical aspects, epidemiology, medical ecology and molecular aspects. *Clin Microbiol Rev* 2003 ; 16 : 265-272.
9. Taylor MRH, Holland CV. Toxocariasis. In : Gillespie CV, Pearson RD editors. *Principles and Practice of Clinical Parasitology*. Chichester : John Wiley & Sons Ltd, 2001, 501-519.
10. Magnaval JF, Glickman LT, Dorchies P, Morassin B. Highlights of human toxocariasis. *Korean J Parasit* 2001 ; 39 : 1-11.
11. Nash TE. Visceral larva migrans and other unusual helminthes infection. In : Mandell, Douglas, Bennett editors. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6th ed. Philadelphia : Churchill Livingstone, 2005, 3293-3299.
12. Alavi SM, Sefidgaran G. Frequency of anti Toxocara antibodies in school children with chronic cough and eosinophilia in Ahwaz. *Iran Pak J Med Sci* 2008 ; 24 (3) : 360-363.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE **CAZURI CLINICE**

ERUPŢIE LICHENOIDĂ POSTMEDICAMENTOASĂ

Laura Stătescu[1], Delia Ciobanu[2], Georgiana Mihăilă[1],
C. Stătescu[3], Laura Gheucă Solovăstru[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Disciplina de Dermatologie
2. Disciplina de Morfopatologie
3. Disciplina de Cardiologie Medicală

LICHEN PLANUS-LIKE ERUPTION. CASE REPORT (Abstract) : Cutaneous adverse drug reactions are among the most common adverse drug reactions. Thise reactions to drugs can comprise a broad spectrum of clinical and histopathological features, with an important capacity to mimic numerous dermatological diseases, making the diagnose very difficult. We present the case of a pacient, under immunomodulating treatment (TNFα antagonist and leflunomide), with a muco-cutaneous lichen planus-like eruption. **Key words** : LICHEN PLANUS-LIKE ERUPTION, ADVERSE DRUG REACTION, IMMUNOMODULATING TREATMENT

Reacţiile lichenoide tisulare, caracteristice unui număr considerabil de aspecte clinice ale afecţiunilor dermatologice, având ca şi prototip lichenul plan, au la bază distrugerea primitivă sau secundară a celulelor bazale epidermice. Spectrul clinic al acestor modificări tisulare este vast, mult mai bine reprezentat decât al oricărei alte reacţii tisulare, cum ar fi cele psoriaziforme sau eczematoase. Lezarea celulelor bazale ale epidermului este corelată cu un răspuns variabil ca intensitate la nivelul dermului.

Erupţiile cutanate lichenoide mimează îndeaproape lichenul plan tipic, atât din punct de vedere clinic cât şi histologic. Ele pot apare ca şi manifestare clinică în diverse situaţii, cum ar fi reacţia grefă contra gazdă, limfoamele maligne, secundar administrării unor medicamente variate (1).

Diagnosticul de reacţie lichenoidă postmedicamentoasă implică necesitatea identificării drogului incriminat, fapt care uneori este extrem de dificil de realizat.

Principalul diagnostic diferenţial se impune cu lichenul plan idiopatic. Printre variantele clinice ale acestuia se încadrează şi sindromul Grinspan, descris în 1965, reprezentat de asocierea între lichen plan, diabet zaharat şi hipertensiune arterială esenţială.

PREZENTAREA CAZULUI

Prezentăm cazul unei paciente cu leziuni cutaneo-mucoase asemănătoare lichenului plan, ce s-a adresat Clinicii Dermatologice Iaşi în vederea stabilirii diagnosticului şi conduitei terapeutice.

Pacienta M.A., 51 ani, prezintă o erupţie cutanată papuloasă, diseminată, intens pruriginoasă, cu debut de aproximativ 4 săptămâni, tratată simptomatic cu antihistaminice şi cu evoluţie rapidă spre extinderea leziunilor şi accentuarea simptomatologiei subiective.

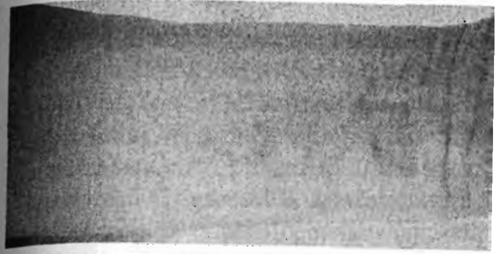


Fig. 1. Leziuni papuloase cu dispoziţie liniară

Examenul clinic relevă leziuni cutanate de tipul papulelor plane, de 2-3 mm, poligonale, violacee, strălucitoare în anumite incidenţe ale luminii, izolate sau grupate, cu tendinţă la formare de plăci sau leziuni cu aspect liniar (fenomen Köbner) (fig. 1), diseminate la nivelul trunchiului şi membrelor, cu dispoziţie simetrică, bilaterală (fig. 2, 3), leziuni de grataj. Leziunile cutanate sunt însoţite de prurit intens, cu caracter permanent. La nivelul mucoasei jugale, în dreptul ultimului molar, s-au evidenţiat leziuni reticulare.

Antecedentele heredocolaterale ale pacientei sunt nesemnificative, însă antecedentele personale patologice relevă o patologie multiplă : hipertensiune arterială esenţială de aproximativ 8 ani, diabet zaharat şi dislipidemie mixtă de 5 ani, artrită psoriazică de 8 ani, pacienta fiind sub tratament sistemic imunomodulator cu inhibitori ai TNF-α (infliximab – 5 mg/kgc/6 săptămâni, 20 perfuzii în ultimii 3 ani) şi leflunomide – 10 mg/zi, de 3 ani, tratament intermitent cu salazopirină (2 g/zi în perioada 2001-2006, reintrodusă de 5 luni), antihipertensive (enalapril, indapamid, metoprolol - 5 ani), antidiabetice orale (metformin – 1 an).

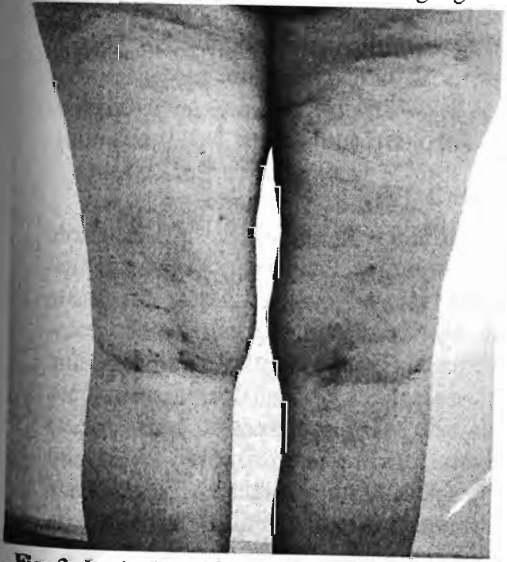


Fig. 3. Leziuni papuloase diseminate la nivelul membrelor

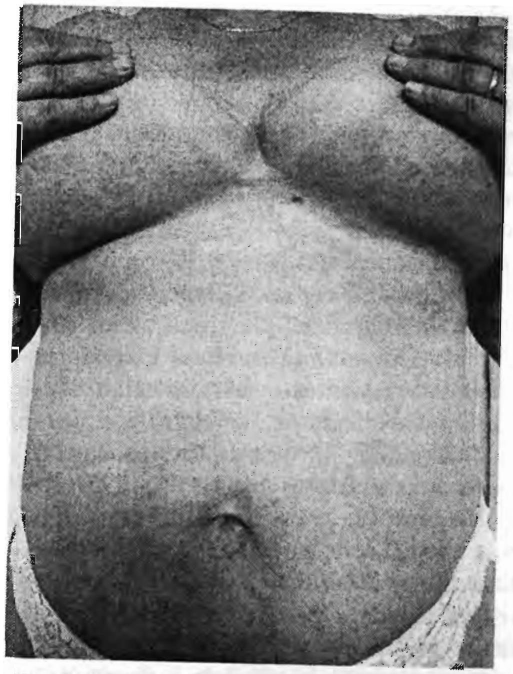


Fig. 2. Leziuni papuloase diseminate la nivelul trunchiului

Investigaţii paraclinice efectuate au relevat : probele inflamatorii uşor modificate (VSH = 30 mm/ 1 oră, PCR - prezent), creşterea IgG serice (IgA = 118 mg%, IgM = 44 mg%, IgG = 1850 mg%), valori crescute ale complexelor imune circulante (CIC = 490 U) şi ale fracţiunilor complementului (C3 = 245 mg/dL, C4 = 54 mg/dL), glicemia = 143 mg/dL. Serologia pentru infecţia HIV, infecţia cu VHB şi VHC a fost negativă. S-a prelevat biopsie din leziunile cutanate localizate la nivelul antebraţului stâng, leziuni cu dispoziţie liniară.

Caracteristicile erupţiei cutanate (întindere, distribuţie – absenţa predilecţiei pentru zonele de flexie şi intensitatea pruritului), schema terapeutică extrem de încărcată a pacientei, cu asocierea a numeroase droguri cu potenţial de dezvoltare a unor leziuni cutanate de tip lichen plan (salazopirina, leflunomidul, metoprololul, enalaprilul, indapamidul, infliximabul) au orientat diagnosticul spre o reacţie lichenoidă postmedicamentoasă.

Principalul diagnostic diferenţial care s-a impus a fost lichenul plan, mai precis sindromul Grinspan, caracterizat clinic prin triada lichen plan (mai ales cu leziuni mucoase), diabet zaharat, hipertensiune arterială esenţială, patologie pe care pacienta o are în antecedente.

Diagnosticul a fost tranşat de rezultatul examenului anatomopatologic al biopsiei din leziunea cutanată ce a evidenţiat aspecte histopatologice sugestive unei reacţii lichenoide postmedicamentoase (epiderm de grosime normală, acoperit de o crustă laxă de keratină ortokeratozică; la nivelul interfeţei dermo-epidermice marcată degenerescenţă vacuolară, cu izolaţi corpi Civatte, ce asociază un redus infiltrat inflamator mononucleat (limfocitar); dermul papilar prezintă un important edem şi moderat infiltrat inflamator mononucleat cu dispoziţie perivasculară) (fig. 4), precum şi de rezultatele investigaţiilor imunologice (valori crescute ale CIC, C3, C4, IgG serice).

S-a opiniat pentru diagnosticul final de reacţie lichenoidă postmedicamentoasă, pacienta primind tratament sistemic cu antihistaminice (levocetirizină, 1 cp/zi), desensibilizante nespecifice (gluconat de calciu 10 mL/zi, vitamina C 1 g/zi), anxiolitice (alprazolam 0,25 mg/zi) şi tratament topic cu corticosteroizi nefluoruraţi, de potenţă mare (mometazone furoate, 1 aplicaţie/zi, cu rărirea treptată a aplicaţiilor), evoluţia leziunilor şi simptomatologiei fiind lent favorabilă. De asemenea, s-a modificat medicaţia antihipertensivă, înlocuind betablocantul şi inhibitorul de conversie al angiotensinei, optând pentru o asociere de sartani şi indapamid. Având în vedere severitatea artropatiei psoriazice s-a ales ca variantă de tratament întreruperea administrării salazopirinei, dar continuarea tratamentului cu infliximab în asociere cu leflunomid în doză de 20 mg/zi.

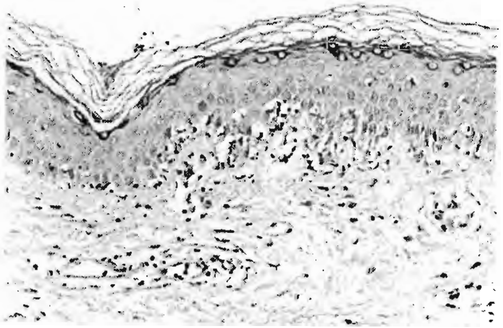


Fig. 4. Epiderm acoperit de o crusta laxă de keratină cu degenerescenţă vacuolară

Particularitatea cazului constă în dificultatea stabilirii agentului etiologic al reacţiei lichenoide postmedicamentoase, între drogurile incriminate putând fi incluse antihipertensivele (metoprololul, enalaprilul, indapamidul), salazopirina, leflunomidul, dar şi infliximabul. O altă particularitate deosebită este dezvoltarea acestei reacţii medicamentoase, ce are la bază hiperreactivitatea sistemului imun, la o pacientă aflată sub tratament sistemic cu imunomodulatoare (infliximab şi leflunomide).

DISCUŢII

Erupţiile lichenoide, cu aspect clinic tipic sau atipic, au fost observate după ingestia, inhalarea sau contactul cu variate clase de medicamente. Manifestările cutanate tipice, aproape identice ca aspect clinic lichenului plan, prezintă leziuni papuloase diseminate, fără predilecţie pentru zonele de flexie, cu implicare minimă la nivelul mucoaselor. Dintre caracteristicile clinice se remarcă absenţa striului Wickham la nivelul leziunilor papuloase (1).

Din punct de vedere histopatologic erupţiile lichenoide induse de medicamente fac parte din tabloul clasic al reacţiilor lichenoide, fiind caracterizate prin prezenţa corpilor citoizi în stratul cornos, parakeratoză focală şi hipogranuloză, infiltrat inflamator limfomonocitar şi eozinofile, mai puţin dens, cu dispunere focală la nivelul dermului (2). Prezenţa eozinofilelor şi/sau parakeratozei reprezintă elementele principale de diferenţiere între lichenul plan şi erupţiile lichenoide postmedicamentoase (3). Imunofluorescenţa directă evidenţiază depozite importante de fibrină la nivelul joncţiunii dermo-epidermice, depozite de IgM, mai puţin IgA, IgG, C3 în corpii coloizi (3).

Dintre drogurile incriminate în apariţia acestor reacţii lichenoide enumerăm: betablocantele, antimalaricele, amlodipina, captoprilul, enalaprilul, diltiazemul, furosemidul, tiazidicele, leflunomidul, levamisolul, L-tiroxina, inhibitorii pompei de protoni, rofecoxibul, sildenafilul, sărurile de aur, sulfasalazina, spironolactonele, penicilamina (2,4) şi mai nou antagoniştii TNF-α (5,6,7).

Intervalul de timp necesar apariţiei manifestărilor clinice este extrem de variabil, putând fi de săptămâni până la luni de administrare a medicaţiei incriminate (1,6).

Tratamentul include în primul rând întreruperea drogului implicat în apariţia leziunilor, perioada necesară dispariţiei acestora fiind de aproximativ 3-4 luni de la întreruperea tratamentului (2,6).

Mecanismele patogenice ale reacţiilor lichenoide sunt incomplet elucidate, ultimele studii efectuate indicând autoimunitatea ca fiind mecanismul patogenic primar în apariţia reacţiilor lichenoide, caracterizate histopatologic prin leziuni ale celulelor bazale epidermice, corelate cu infiltratul limfocitar dermic (8).

Severitatea leziunilor cutaneo-mucoase depinde de balanţa între intensitatea şi perpetuarea activităţii celulelor T şi capacitatea celulelor epidermice de a se apăra de acţiunea acestora. Migrarea epidermotropică a celulelor T poate fi influenţată de factori exogeni (ex. medicamente, infecţii virale, autoantigene etc.), ducând la formarea unei populaţii de celule T „stabile” în epiderm (8), reprezentate de celule CD8+ şi CD4+. Pentru apariţia leziunilor cutanate este necesară interacţiunea dintre celulele dendritice, prezentatoare de antigen şi celulele T. În cadrul acestei reacţii inflamatorii un rol important este jucat de IFNα şi TNFα, citokyne cu rol proinflamator (5,7,8).

Această implicare face dificil de explicat apariţia leziunilor cutaneo-mucoase în cazul prezentat anterior, întru-cât pacienta se afla sub tratament cu inhibitori ai TNFα (infliximab) de 3 ani. Totuşi, unii autori (5), încearcă să explice acest fenomen prin relaţia complexă dintre cele două citokine proinflamatorii. Inhibarea TNFα poate duce la distrugerea balanţei dintre cele două citokine, ducând la creşterea concentraţiei IFNα, cu activarea patologică a celulelor dendritice şi a celulelor T latente, „stabile” de la nivelul tegumentului şi mucoaselor, explicând astfel apariţia leziunilor lichen plan-like sub tratamentul cu inhibitori ai TNFα (3,5).

Cazul prezentat merită supus atenţiei datorită dificultăţii stabilirii etiologiei erupţiei lichenoide postmedicamentoase, având în vedere multipla asociere de droguri cu potenţial de a dezvolta asemenea reacţii la nivel cutaneo-mucos, dar şi datorită terenului particular pe care au apărut aceste leziuni, având în vedere că pacienta se află sub tratament sistemic cu inhibitori ai TNFα.

BIBLIOGRAFIE

1. Wolff K, Goldsmith LA, Katz SI et al. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. Seventh Edition,* McGraw-Hill Companies, 2008 ;
2. Petrescu Z. *Dermatologie şi infecţii transmise sexual.* Ed. Junimea, Iaşi, 2008 ;
3. Brehmer-Andersson E. *Dermatopahology.* A Resident's Guide. Springer 2006 ;
4. Blume JE, Helm TN, Ehrlich M, Camisa C. Drug eruptions. *www.emedicine.medscape.com,* 2009.
5. Asarch A, Gotlieb A, Lee J et al. Lichen planus-like eruptions : An emerging side effect of tumor necrosis factor-α antagonists. *J Am Acad Dermatol* 2009 ; 61 : 104-111.
6. Wilson TM, Louie GH, Rapkiewicz AV et al. Lichenoid drug eruption associated with TNF inhibitors. *J Allergy Clin Immunol* 2009 ; 117 : S229 : 886.
7. Exarchou S, Voulgari P, Markatseli T, Zioga A, Drosos A. Immune-mediated skin lesions in patients treated with anti-tumor necrosis factor alpha inhibitors. *Scand J Rheumatol* 2009 ; 4 : 1-4.
8. Shiohara T, Mizukawa Y. The immunological basis of lichenoid tissue reaction. *Autoimm Rev* 2005 ; 4 : 236-241.

NOUTĂŢI

STUDIUL *GAZEL* DE AUTOEVALUARE A STĂRII DE SĂNĂTATE ÎNAINTE ŞI DUPĂ PENSIONARE

Guvernele din cele mai multe ţări dezvoltate sunt obligate să crească proporţia din populaţia existentă integrată în activitate, datorită fenomenului general de îmbătrânire. Coordonatorii studiului longitudinal *GAZEL* au investigat pe o cohortă din Franţa cum este percepută afectarea stării de sănătate de către muncă, respectiv cum se simt aceleaşi persoane după pensionare. Astfel, un număr de 14.714 de angajaţi (dintre care 11.581 erau bărbaţi - 79%) ai Companiei Naţionale de Gaze şi Electricitate, au fost monitorizaţi timp de 7 ani înainte şi 7 ani după pensionare, în intervalul 1989-2007. Prin metoda regresiei logistice repetate a fost identificată o scădere odată cu vârsta a nivelului suboptim de sănătate. Cu toate acestea, între anul care a precedat pensionarea şi primul an de pensie există o scădere a prevalenţei nivelului suboptim de sănătate de la 19,2% (95% CI 18,5-19,9) la 14,3% (13,7-14,9), ceea ce corespunde unui câştig referitor la starea de sănătate de 8-10 ani. Autorii au remarcat că pensionarea a ameliorat percepţia individuală a bărbaţilor (*odds ratio*=0,68, IC 95% 0,64-0,73), a femeilor (*odds ratio*=0,74, IC 95% 0,67-0,83), indiferent de nivelul anterior de competenţă (inferior *odds ratio*=0,72, IC 95% 0,63-0,82 ; ridicat *odds ratio*=0,70, IC 95% 0,63-0,77), fenomenul continuând de-a lungul primilor 7 ani de pensie. Un mediu de muncă neadecvat şi acuzele subiective legate de starea de sănătate înainte de pensionare s-au asociat cu o creştere a prevalenţei nivelului suboptim de sănătate la indivizii încă activi şi cu o rată de mai mare de ameliorare după pensionare. Persoanele care au lucrat într-un mediu calitativ superior, cu solicitări mai mici şi cu satisfacţii personale legate de muncă, nu au prezentat după pensionare o ameliorare a percepţiei asupra stării lor de sănătate. Aceste date sugerează că relaţia stare de sănătate-boală, percepută în termeni de probleme de sănătate este ameliorată semnificativ de pensionare la toate grupurile de persoane, cu excepţia celor care au condiţii ideale de muncă. De asemenea, mediul de lucru pentru persoanele în vârstă trebuie reconfigurat, dacă se doreşte o creştere a gradului de ocupare pe piaţa forţei de muncă (Westerlund H, Kivimäki M, Singh-Manoux A et al Self-rated health before and after retirement in France (GAZEL) : a cohort study. *The Lancet* 2009 ; 374 (9705) : 1889-1896).

F.D. Petrariu

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi – 2009 – vol. 113, nr. 4

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE **CAZURI CLINICE**

NEPHROTIC SYNDROME FROM THE GENETIC POINT OF VIEW

Florentina Cucer[1], Cristina Rusu[2], R. Muller[1], Mihaela Munteanu[1],
Doina Mihăilă[3], Ingrith Miron[1], O.Brumariu[1]
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
School of Medicine
1. IVth Pediatric Clinic
2. Department of Genetics
"Sf. Maria" Emergency Children's Hospital Iaşi
3. Pathology Laboratory

NEPHROTIC SYNDROME FROM THE GENETIC POINT OF VIEW (Abstract): Nephrotic syndrome, an entity described at the beginning of the XXth century, has still an unclear pathophysiology, genetic and immunologic factors being incriminated. Here we reported 3 cases of nephrotic syndrome with genetic involvement. The article presented tremendous progress that have been made over the past few years in enhancing our understanding of the slit-diaphragm and podocyte biology and genetics involvement in nephrotic syndrome. **Key words**: NEPHROTIC SYNDROME, PATHOPHYSIOLOGY, GENETIC FACTORS

Nephrotic syndrome is an entity described at the beginning of the XXth century, defined as heavy proteinuria (over 50 mg/kg/day), hypoalbuminemia (less than 25 g/L) and hypercholesterolemia (over 2 g/L).

The pathophysiology of nephrotic syndrome is still unclear, genetic and immunologic factors being incriminated. An interesting hypothesis on the occurrence of massive proteinuria, suggested by Carraro et al., was that genetic weakness of the slit-diaphragm components is associated with the action of cytokines during immunological processes (1).

The most exciting development in recent years in understanding the pathophysiology of nephrotic syndrome has occurred in the area of podocyte biology, with the discoveries of nephrin, podocin and other proteins, intimately associated with the podocyte and the slit-diaphragm.

Nephrin is a transmembrane protein localized to the slit-diaphragm, encoded by the NPHS1 gene, located on chromosome 19. Mutations in the NPHS1 gene are responsible for congenital nephrotic syndrome, Finnish type (2).

Podocin is another protein component of the slit-diaphragm and is encoded by the NPHS2 gene, located on chromosome 1. Mutations in the NPHS2 gene are associated with autosomal recessive, steroid-resistant idiopathic nephrotic syndrome with focal segmental glomerulosclerosis on biopsy findings (3). Other genetic forms of nephrotic syndrome continue to shed light on the pathogenesis of idiopathic nephrotic syndrome.

In the IVth Pediatric Clinic of "Sf. Maria" Children's Hospital in Iaşi we have diagnosed and followed up 197 children with nephrotic syndrome in 15 years of experience. Among these cases, we have followed 3 patients with genetic forms of nephrotic syndrome : 2 cases of Finnish type and 1 case of Schimke disease.

CASE REPORTS

Case 1: G.B., female, presented at 6 weeks old with generalized edema. She was the first child of a young and healthy couple (mother 21 years old, father 24 years old), apparently unrelated (but coming from the same area). The pregnancy was uneventful and the child was born naturally at 9 months gestational age, with 3000 g birth weight. We had no data on the aspect of the placenta and on the Apgar score. At birth the baby was vaccinated for hepatitis B and tuberculosis.

After birth, the child was breast fed and the mother remarked an excessive weight gain of 500 g/week. The patient was evaluated by a pediatrician at 5 weeks of age. The doctor noticed that her weight was 4800 g, with white and soft, generalized edema, blood pressure was 85/50 mmHg and oliguria was present (150 mL over 24 hours). Laboratory investigation revealed important proteinuria (3.7 g/L), associated with hypoproteinemia (32 g/L) and hypercholesterolemia (3.4 g/L). The diagnosis was primary congenital nephrotic syndrome, after a negative check-up for syphilis, toxoplasmosis, cytomegalovirus, hepatitis B and C, and HIV.

The initial treatment consisted of Prednisone, 2 mg/kg/day, associated with Enalapril 0.1 mg/kg/day and Dipiridamole 5 mg/kg/day, for 1 month. After 1 month we noted that nephrotic syndrome is steroid-resistant and the treatment with Prednisone was stopped. Renal biopsy was performed at 4 months of age and showed minimal changes on optic microscopy, for all the 15 glomeruli examined, with negative immunofluorescence exam for IgG, IgM, IgA and fibrinogen. Blood for molecular tests was obtained, regarding a potential mutation of NPHS1 gene.

After renal biopsy, we continued the therapy with human albumin 20%, 0.5 g/kg, associated with Furosemide 1 mg/kg/dose and Enalapril 0.8 mg/kg/day. The needs for daily protein intake around 3 g/kg/day imposed precocious introduction of meat, fresh cheese and eggs in the daily regimen of this child. Despite this treatment, at 6 months of age the nutritional status was poor (weight = 5380 g, -2.63 SD, with massive edema, height = 58 cm, -2.55 SD), and psychomotor development was delayed. Between 4 and 6 months of age the evolution was complicated by different infections (interstitial pneumonia, otitis media and urinary tract infection with *E. coli*).

The molecular analysis revealed a deletion in intron 21 of NPHS1 gene, homozygote and we established the diagnosis of congenital nephrotic syndrome, Finnish type. Unilateral nephrectomy was decided and the examination of the kidney revealed glomerular inflammation, tubular atrophy, crescens, glomerular sclerosis, mesangial proliferation and tubular cysts.

Postoperative, the clinical evolution was quickly favorable and the patient was discharged 10 day after surgery; the weight at discharge was 5200 g. The girl was evaluated 1 month after the operation and we noted persistant proteinuria (2.5 g/L) and hypoalbuminemia (18 g/L), ameliorated compared to the status before nephrectomy.

The molecular investigation revealed an identical mutation in both parents, heterozygotes for gene NPHS1, confirming that parents were related despite their knowledge of the absence of consanguinity.

For 16 months the child was lost from the evidence of our clinic; we reviewed the patient at 22 months of age, when she was admitted for investigations in our clinic, together with her younger brother (5 months old). The girl was severely malnourished (weight = 8900 g, height = 85 cm), without edema and an important developmental delay was noted. Nephrectomy of the remaining kidney was proposed, but parents refused the intervention. Her brother looked normal (weight = 6800 g, height = 62 cm) and the parents refused his investigations, except abdominal ultrasound (no abnormalities).

At 26 months of age, the girl was referred to our clinic by the family doctor, in a severe general condition, with bronchopneumonia and multiple system and organ failure (respiratory, cardiac and renal failure); she died 4 hours after hospital admission.

Case 2: O.M., male, admitted in our clinic at 1 month of age, was diagnosed with congenital nephrotic syndrome, Finnish type, based on molecular analysis. He was treated with human albumin 20%, 0.5 g/kg, associated with Furosemide 1 mg/kg/dose, and Enalapril 0.8 mg/kg/day. He died 1 month later, due to meningitis.

Case 3: H.G., male, admitted in our clinic at 5 years of age, was diagnosed with primary nephrotic syndrome, based on severe edema, heavy proteinuria (14 g/L), hypoalbuminemia (23.8 g/L) and hypercholesterolemia (6.04 g/L).

He was the second child of a consanguineous family, his older sister (11 years old) being apparently normal. He was born prematurely, at 34 weeks gestational age (birth weight = 2400 g, Apgar score=7 at 1 minute). Postnatal evolution was apparently normal, according to his parents, until 5 years of life, when family doctor noted failure to thrive and bilateral undescended testis. A bilateral orchidopexia was performed and 1 week after the operation, bilateral palpebral edema, with secondary generalization occurred.

Admitted in our clinic, concomitant with the diagnosis of primary nephrotic syndrome, we have noted a disproportionate dwarfism (-4.5 SD for height, -4.14 SD for weight, -3.58 SD for head circumference and -5 SD for the trunk). The patient had mild dismorphic face. The neck was short, the thorax was globulous, the abdomen was prominent, with edema of the abdominal wall and he had moderate lumbar hyperlordosis, with normal limbs.

Therapy with Prednisone, 2 mg/kg/day, associated with Enalapril 0.1 mg/kg/day and Dipiridamole 5 mg/kg/day, was started for 1 month. After 1 month we noted that nephrotic syndrome is steroid-resistant and started therapy with 6 boluses of Methilprednisolone, 30 mg/kg/day, administered every other day, for 2 weeks, alternative with Levamisole, 2.5 mg/kg/day.

Persistence of proteinuria at the end of that treatment was an indication of renal biopsy. Only 5 glomeruli were obtained and their analyses described minimal changes in optic microscopy. We decided to start treatment with Cyclosporine A, 6 mg/kg/day. After 2 months of therapy with Cyclosporine A, a severe infection occurred. Our patient developed bronchopneumonia, with secondary bronchiectasis. At that moment of evolution, the hypothesis of genetic involvement was made, based on association of clinical aspect with steroid-resistant nephrotic syndrome and severe infection. An X-ray examination of lumbar spine and pelvis revealed ovoid vertebral bodies, a small and deformed femoral head and flattening of the acetabulum. The immunologic investigation identified abnormal ratio of lymphocytic subpopulations CD4 and CD8 (CD4/CD8=0.44).

Diagnosis of Schimke disease was formulated, that associated immune-osseous dysplasia, with nephropathy and deficiency of T lymphocytes. DNA test for specific mutation of SMARCALL 1 gene was performed (Prof. Cornelius Boerkoel, Department of Molecular & Human Genetics, Baylor College of Medicine, Houston, Texas, U.S.A.) and revealed the absence of a specific mutation.

Despite the treatment of nephrotic syndrome with multiple immunosuppressive drugs (Methilprednisolone, Cyclosporine A, Mycophenolate mofetil), the evolution toward end-stage renal failure was noted after 14 months. High values of blood pressure were noted during follow-up (190/120 mmHg) and treatment with an association of 4 antihypertensive drugs was needed (Metoprolol, Enalapril, Clonidine, and Nifedipine). At 18 months after the onset of the nephrotic syndrome, our patient developed stroke, due to arterial hypertension, with generalized seizures and coma. MRI confirmed cerebral lacunas. The boy died 4 days after the stroke.

DISCUSSIONS

The role of genetic factors in nephrotic syndrome was studied due to reports of familial cases and the involvement of genetic mutations in steroid-resistant nephrotic syndrome. Koziell et al. (4) have studied mutations of NPHS1 and NPHS2 in congenital nephrotic syndrome and have identified 4 cases with focal segmental glomerulosclerosis and both genes mutations, indicating a functional relation between nephrin and podocin.

Nephrotic syndrome Finnish type represents most of the congenital cases, initially described in Finland. It appears in premature babies, small for gestational age, with large placenta (over 25% of the new-born weight). The infants have perinatal proteinuria and edema starting in the first week of life and some distinctive features (large fontanels, small nose, hypertelorism, low set ears and umbilical hernia). The feeding is difficult and affected children develop failure to thrive, due to massive proteinuria and frequently associate pyloric stenosis or gastro-esophageal reflux. Medical and surgical aggressive treatment is mandatory. The two cases reported here had a fatal ending, both due to severe infections.

After nephrin and podocin, other proteins of the slit-diaphragm were described. An interesting molecule is Neph1, from a family with 3 related proteins (Neph1, Neph2 and Neph3). Neph1 has aminoacids sequences resembling nephrin and interacts with this protein (5). Nephrin and Neph1 are signaling proteins and also activating intracellular enzymes. The signals are used by podocin and this interaction is essential for the good functioning of the slit-diaphragm (6).

Mundel et al. described in 2002 other 2 proteins of the slit-diaphragm: P-cadherin and FAT (7). These proteins have close relations with the actin of the cytoskeleton, through adapting molecules, such as podocin, CD2AP, zona-occludens-1 (ZO-1) and cathenins. Nephrin is connected with CD2 AP and Neph 1 is connected with ZO-1 (8).

In 2003, Ahola et al. identified a new protein on podocytes – densin. This protein is implicated in cellular adhesion, with involvement in cellular shape maintaining (9). Alpha-actinin-4 from the cytoskeleton interacts directly with densin.

WT1 is a transcription factor essential for nephrogenesis and for maintenance of glomerular structure in mature kidneys. WT1 mutations are responsible for nephrotic syndrome associated with Denys-Drash syndrome and Frasier syndrome (10).

Denys-Drash syndrome consists of a triad: Wilms tumor, male pseudohermaphroditism and progressive glomerulopathy. Classically, it is described in the neonatal period, due to ambiguous genitalia, but more than 40% of the new-born have female phenotype. The nephropathy occurs in the first year of life and renal biopsy reveals mainly diffuse or focal mesangial sclerosis. There are also rare cases of focal and segmental glomerulosclerosis reported.

Frasier syndrome associates male pseudohermaphroditism and nephropathy (11). Patients have female phenotype, sclerotic gonads and XY karyotype; gonadoblastoma is a frequent complication in dynamics. The differences from Denys-Drash syndrome are: Wilms tumor, delayed evolution towards end-stage renal failure, and mainly histological aspect of focal segmental glomerulosclerosis in Frasier syndrome.

Schimke immune-osseous dysplasia associates disproportionate dwarfism and dismorphic face, nephropathy and T lymphocyte deficiency. The onset of nephropathy is with proteinuria, kidney disorder being steroid-resistant and leading to end-stage renal disease. T lymphocytes deficiency determines a high risk for severe bacterial, viral or fungal infections. Molecular diagnosis is accessible only to research laboratories, detection of mutations of SMARCALL 1 gene being identified in 90-95% of the cases. Our case had a typical presentation, but an atypical genetic involvement.

Experimental animal models evidenced the importance of every component of the slit-diaphragm: the nephrin and Neph1 deficit produces massive proteinuria, immediately after birth, whereas the defects of interaction molecules are lately manifested, with less proteinuria (12). In humans, nephrotic syndrome is frequently sporadic, but familial cases, with autosomal dominant or recessive inheritance have been described. The genes with autosomal dominant inheritance were identified on chromosomes 19q13, 11q21-22 and 11q24, being represented by mutations in ACTN4 (gene that encodes á-actinin-4) – on chromosome 19q13 and mutations in TRPC6 (a calcium channel, from the slit-diaphragm) – on chromosome 11q21-22. For autosomal recessive inheritance the mutations are located on chromosomes 19q13, 1q25-31, 14q24.2 and 2p12-p13.2 (13).

There have been reported over 60 mutations of NPHS1 gene in Caucasian population and there have been identified mutations in NPHS2 gene for 26-38% of familial cases and for 10.5-23% of sporadic cases with steroid-resistant nephritic syndrome, in a large European study (14).

Genetic investigations in Asia did not revealed similar mutations as in Europe, suggesting the need for further studies (15). In 2003, in India, a family with focal segmental glomerulosclerosis and deafness was reported, with a different mutation on region 11q22 than the mutation on 11q24 for gene TRPC6 (16). In South Chorea it was identified a mutation for gene ACTN4, associated with a distinct subtype of collapsing focal segmental glomerulosclerosis (17).

Karle et al. (18) reported that approximately 46% of the familial forms of focal segmental glomerulosclerosis are caused by mutations of NPHS2 gene, also identified in 10-30% of sporadic forms of the disease. A screening of the patients diagnosed with steroid-resistant nephrotic syndrome, for possible mutation in NPHS2 gene, has multiple advantages: to avoid an useless aggressive immunosuppressive therapy, to evaluate the family of the patient for prenatal diagnosis and genetic counseling and to chose an unaffected living donator for renal transplant if needed.

In 2005, a group of researchers from Michigan University, described the 7th gene involved in primary nephrotic syndrome – NPHS3, responsible for an enzyme implicated in cell growth (19).

The success of steroid therapy is also genetically determined; three variants of MDR1 gene were described (1236T, 2677T and 3435T), for patients with a slow response to corticosteroids (20).

Recently, a mutation of LAMB2 gene, for beta2 chain of laminin, a protein from the structure of glomerular basement membrane, associated with Pierson syndrome (diffuse mesangial sclerosis, ocular anomalies and neuromuscular symptoms) was reported (21).

CONCLUSIONS

Although tremendous progress have been

made over the past few years in enhancing our understanding of the slit-diaphragm and podocyte biology and genetics involvement, much work remains to be done for understanding the pathophysiology of nephrotic syndrome.

REFERENCES

1. Carraro M, Caridi G, Bruschi M et al. Serum glomerular permeability activity in patients with podocin mutations (NPHS2) and steroid-resistant nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1946-1952.
2. Kestila M, Mannikko M, Holmberg C et al. Congenital nephrotic syndrome of the Finnish type maps to the long arm of chromosome 19. *Am J Hum Genet* 1994; 54 (5): 757-764.
3. Antignac C. Genetic models: Clues for understanding the pathogenesis of idiopathic nephrotic syndrome. *J Clin Invest* 2002; 109: 447–449.
4. Koziell A, Iyer VK, Moghul NE, Ramani P, Taylor CM. Congenital nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2001; 16: 185-189.
5. Pollak MR. Inherited podocytopathies: FSGS and nephrotic syndrome from a genetic viewpoint. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 3016-3023.
6. Maruyama K, Iijima K, Ikeda M et al. NPHS2 mutations in sporadic steroid-resistant nephrotic syndrome in Japanese children. *Pediatr Nephrol* 2003; 18: 412-416.
7. Mundel P, Shankland SJ. Podocyte biology and response to injury. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 3005-3015.
8. Schmid H, Henger A, Cohen CD et al. Gene expression profiles of podocyte-associated molecules as diagnostic markers in acquired proteinuric diseases. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 2958-2966.
9. Ahola H, Heikkilä E, Ĺström E et al. A novel protein, densin, expressed by glomerular podocytes. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1731-1737.
10. Dharnidharka VR, Ruteshouser EC, Rosen S et al. Pulmonary dysplasia, Denys-Drash syndrome and Wilms' Tumor 1 gene mutations in twins. *Pediatr Nephrol* 2001; 16: 227-231.
11. McTaggart SJ, Algar E, Chow CW, Powell HR, Jones CL. Clinical spectrum of Denys-Drash and Frasier syndrome. *Pediatr Nephrol* 2001; 16: 335-339.
12. Kaplan J, Kim S, North K. Mutations in ACTN4, encoding alpha-actinin-4, cause familial focal segmental glomerulosclerosis. *Nat Genet* 2000; 24: 251.
13. Kari JA, Sinnott P, Khan H, Trompeter RS, Snodgrass GJAI. Familial steroid-responsive nephrotic syndrome and HLA antigens in Bengali children. *Pediatr Nephrol* 2001; 16: 346-349.
14. Weber S, Gribouval O, Esquivel EL et al. NPHS2 mutation analysis shows genetic heterogeneity of steroid-resistant nephrotic syndrome and low post-transplant recurrence. *Kidney Int* 2004; 66: 571-579.
15. Kitamura A, Tsukaguchi H, Iijima K et al. Genetics and clinical features of 15 Asian families with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 3133-3138.
16. Prakash S, Chung KW, Sinha S et al. Autosomal dominant progressive nephropathy with deafness: linkage to a new locus on chromosome 11q24. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1794-1803.
17. Choi HJ, Lee BH, Cho HY et al. Familial focal segmental glomerulosclerosis associated with an ACTN4 mutation and paternal germline mosaicism. *Am J Kid Dis* 2008; 51 (5): 834-838.
18. Karle SM, Uetz B, Ronner V. Novel mutations in NPHS2 detected in both familial and sporadic steroidresistant nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 388-393.
19. Gbadegesin R, Hinkes BG, Hoskins BE et al. Mutations in PLCE1 are a major cause of isolated diffuse mesangial sclerosis (IDMS). *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23 (4): 1291-1297.
20. Wasilewska A, Zalewski G, Chyczewski L, Zoch-Zwierz W. MDR-1 gene polymorphisms and clinical course of steroid-responsive nephrotic syndrome in children. *Pediatr Nephrol* 2007; 22: 44-51.
21. Choi HJ, Lee BH, Kang JH et al. Variable phenotype of Pierson syndrome. *Pediatr Nephrol* 2008; 23 (6): 995-1000.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi – 2009 – vol. 113, nr. 4

APPLICATIONS OF 3-D ULTRASOUND IN FEMALE INFERTILITY

Mihaela Grigore, Alina Mare
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
School of Medicine
Department of Obstetrics and Gynecology

APPLICATIONS OF 3-D ULTRASOUND IN FEMALE INFERTILITY (Abstract): 3D ultrasound is an emerging technology with great promise to further this role. This overview describes and illustrates the applications of three-dimensional transvaginal ultrasound in female infertility. The authors illustrate their cases where 3D ultrasound was beneficial for infertile patients. The obvious advantages are that 3D ultrasound offers more rapid and reproducible image acquisition as well as enhanced visualization and post-processing capabilities. Its main applications include assessment of uterine congenital anomalies, intrauterine pathology, tubal patency, polycystic ovaries, ovarian follicular monitoring and endometrial receptivity. Ongoing research will likely continue to define the clinical role of 3D ultrasound and it is possible in the near future to regard to 3D ultrasound as the Golden Standard for pelvic imaging. **Key words**: 3D ULTRASOUND, FEMALE INFERTILITY, UTERINE CONGENITAL ANOMALIES

Over the past 40 years, ultrasound imaging revolutionized gynecologic medicine. Despite competition from MRI and CT with their obvious advantages, ultrasound remains the first choice for gynecologic applications. Conventional 2D sonography provides two-dimensional views of three-dimensional structures that an experienced sonographer has to dynamically examine in order to depict a complex 3D anatomy.

Although its clinical importance is well defined, 2D has several limitations, which can be surpassed by 3D ultrasound. Uniquely, three-dimensional sonography allows demonstration of the coronal plane perpendicular to the transducer face facilitating the identification of surface irregularities, which can then be accounted for during volume measurement (1). The volume 3D ultrasound data is composed of multiple 2D planes with known spatial relationships. The process of 3D scanning consists of four basic steps: data acquisition, volume analysis and processing, image animation (cine loop), archiving the volumes.

Once the volume has been stored, a single point in space can be selected in the volume, and this point can be visualized in all three perpendicular planes. The examiner can navigate through the volume, keeping track of a single point in space in all three planes. This is valuable not only for imaging the uterus and ovaries, but also for measuring distances and even volumes of organs. It is possible to "rotate" the organ by spinning the image in any of the planes. Another advantage is navigation through a single plane while watching the corresponding effect on the other two planes. This gives us complete control of the volume to view it or perform measurements in any display desired (fig. 1).

Advocates of three-dimensional sonography (2) suggest that these features offer the user the following advantages in comparison to two-dimensional sonography:

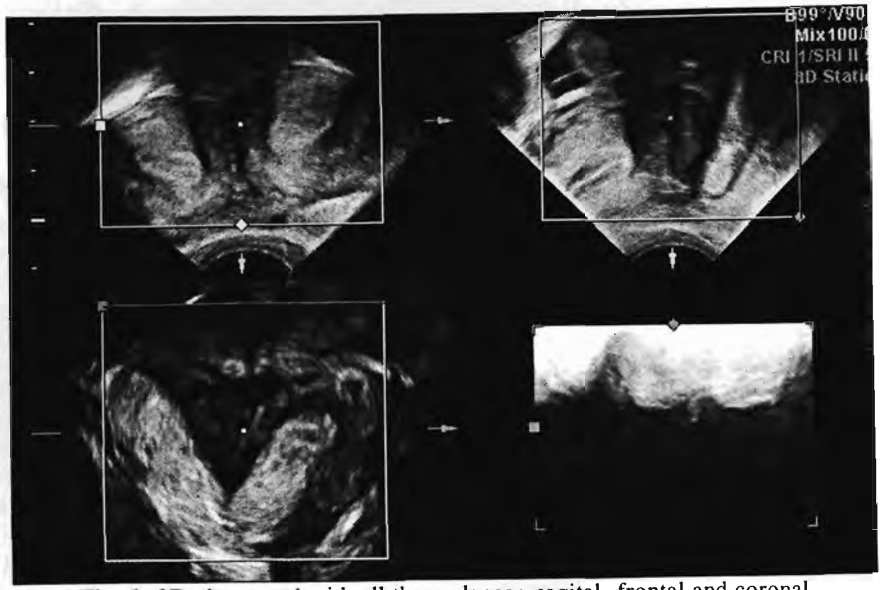


Fig. 1. 3D ultrasound with all three planes : sagital, frontal and coronal

- accurate measurement of organ dimensions and volumes
- improved anatomic and blood flow information
- improved assessment of complex anatomic anomalies
- a better specificity in regard to the confirmation of normality
- standardization of the sonographic examination procedure
- reduced scanning time with cost-effective use of equipment and sonographer's time
- possibility of post processing the volumes
- telemedicine and tertiary consultation

An extension of 3D technique is 4D ultrasound, the continuous acquisition of 3D volume data to represent the volume dynamically through time.

In female infertility, three-dimensional ultrasound is used to diagnose uterine congenital anomalies, intrauterine pathology, to assess tubal patency, endometrial receptivity and to evaluate ovarian pathology. A new method of displaying sonographic volumes is called the inversion mode, which displays the cystic portions within the entire volume as echogenic areas. The grayscale portion of the image becomes transparent, and the cystic areas become brightly visible in three dimensions (3).

UTERUS

3D ultrasound of the uterus may be performed either by transabdominal or transvaginal approach, similar to standard 2D exam. While 2D images are based only on the sagittal and transverse planes, the coronal plane or oblique variations are often more relevant for the diagnostic and the description in a variety of pathologies and applications. 3D enables a better visualization of uterine anomalies, of the endometrium, endometrial polyps, localization of leiomyomas, visualization of cystic areas within the myometrium.

Accurate and reliable diagnosis of uterine congenital anomalies is important because these are associated with an increased risk of repeated first and second trimester miscarriage and preterm delivery (4). Diagnosing uterine congenital anomalies is undoubtedly the area where 3D sonography has contributed the most and has become the investigation of choice in units where available (5,6).

In terms of the type of anomaly the frequency is as follows : the arcuate uterus is the most common, followed by subseptate and bicornuate uterus and then more complex anomalies such as uterus didelphys and single uterine horns the least prevalent. Comparing the shape of the endometrial cavity with the uterine surface contour can clearly display the differences between a bicornuate and septate uterus. It is very difficult to discern the difference between an arcuate and a septate uterus using two-dimensional ultrasound images only, as the exact shape of the uterine cavity can only be displayed in a non-scanning plane (fig. 2, 3).

3D ultrasound also improved our knowledge regarding the type of uterine anomaly and infertility impact. Women with a subseptate uterus have a significantly higher proportion of first-trimester loss and women with an arcuate uterus a significantly greater proportion of second-trimester loss and preterm labor compared to women with a normal uterus (7). Also the 3D ultrasound studies have demonstrated that pregnancy outcome is related not only to the degree of defect but also to the remaining cavity length which is significantly shorter in both arcuate and subseptate uterus in women with recurrent miscarriage (8). 3D ultrasound also proved to be a very useful tool in the diagnosis of unicorn uterus (fig. 4).

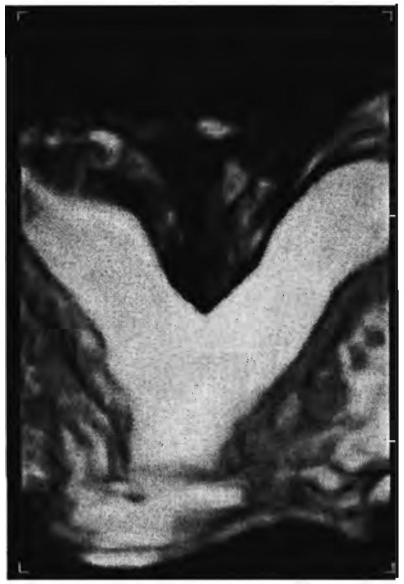


Fig. 2. Uterus bicornuate - coronal plane

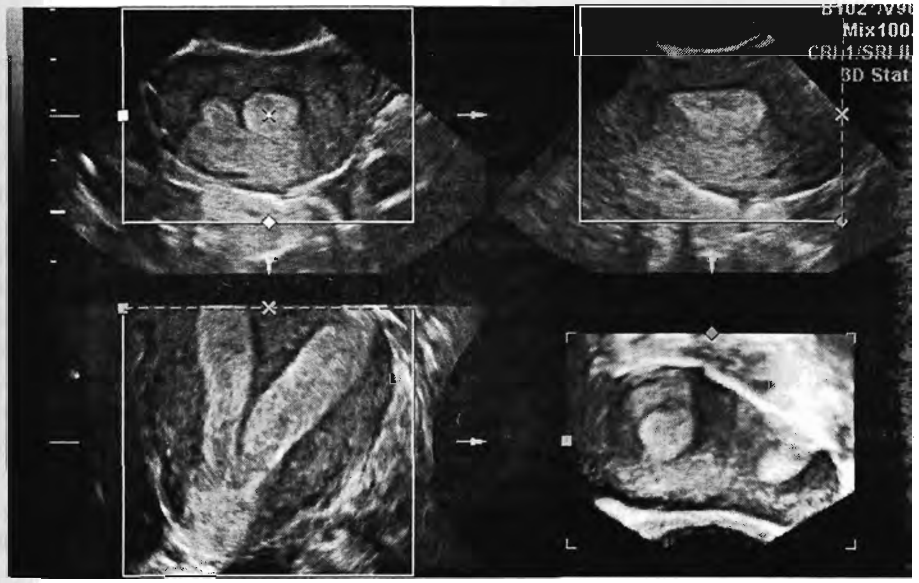


Fig. 3. 3D ultrasound of septate uterus

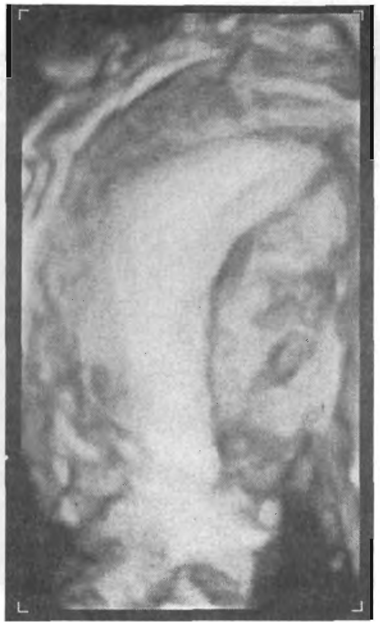


Fig. 4. Unicorn uterus - coronal plane

An important fact is that 3D evaluating of uterine anomalies permit a standardization based on measurement of the fundal distortion from the midpoint of an imaginary horizontal line joining the upper aspects of the cornuae to the upper aspect of the uterine cavity and offer this method a good reproducibility (9) 3D ultrasound is able to easily differentiate septate and bicornuate uterus without the help of the laparoscopy as it visualize both the uterine cavity and the surrounding myometrium. Three-dimensional US with surface- and transparent-mode reconstructions of the uterus have reported advantages over conventional two-dimensional scanning. In experienced hands, a sensitivity of 93% and a specificity of 100% have been achieved (10). The technique allows improved delineation of the external uterine contour and uterine volume (5). However there was no documented benefit for normal cases (11).

The coronal view obtained with 3D ultrasound may be used to locate the position of intrauterine pathology. Often it is possible to assess the endometrium for polyps and submucous fibroids without even having to do a sonohysterogram. In many cases, the coronal views of the uterus and the ability to navigate through them permit us to visualize the cavity and material within more precisely and accurately than using traditional two-dimensional slices. 3D volume ultrasound is therefore superior to 2D views in identifying the exact location of endometrial polyps, the degree of protrusion of a submucous fibroid into the cavity, as well as the amount of myometrium remaining outside of the submucous fibroid, all information which is needed before hysteroscopic resection of these lesions can be undertaken. It is easy also to measure the volume of such a fibroid or polyp or even the volume of the entire endometrium, quickly and easily using a 3D volume set.

Sometimes it may be necessary to distend the uterine cavity with saline or other contrast material in order to evaluate the endometrial lining effectively. Although sonohysterography is widely used with 2D ultrasound to display endometrial abnormalities, it is the 3D volume acquisitions and the display of any reconstructed plane that permits the optimal assessment of the endometrium and uterine cavity (12). This technique allows the detection and accurate location and volume of endometrial polyps and submucous fibroids. Sonohysterography with 3D reconstruction gives the gynecologist all the needed information for planning surgery for fibroids. Deciding whether a fibroid can be resected at hysteroscopy or whether an abdominal procedure is necessary or not requires accurate information such as: the exact location of the fibroids, degree of protrusion into the cavity and width of remaining myometrium around the fibroid. One can also perform surface rendering of the endometrial lesion, such as a virtual hysteroscopy, in preparation for the surgery. Sonohysterography can also be done in real time 4D, where the distention of uterine cavity, cornua and tubes with saline or other contrast media can be displayed as it takes place.

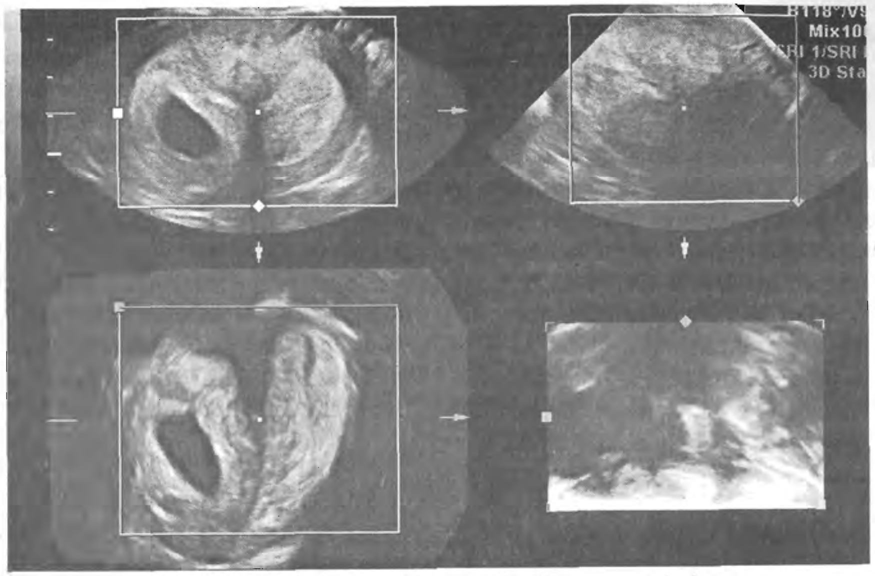


Fig. 5. Septate uterus with a gestational sac coronal plane

Recent studies showed that 3D give better and more reproducible estimations of endometrial volume than 2D. The applications that benefit from this approach include the determination of endometrial receptivity for IVF procedures (13). The endometrial receptivity can be also evaluated using transvaginal color Doppler and 3D power Doppler (14). Patients with a low resistive index of the subendometrial vessels reportedly have a higher incidence of pregnancy. Further investigation are needed in order to evaluate the reliability of these findings as well as the role of 3D ultrasound in the assessment of endometrial receptivity. 3D ultrasound is also used for increasing the efficiency of embryo transfer and other invasive procedures. 3D guidance of embryo transfer procedures can be helpful to seek an optimal transfer area in the uterine cavity in order to increase pregnancy success rates (15).

In early pregnant patients, the location of the gestational sac, particularly if it is near cornua, can be assessed most accurately using the reconstructed coronal view of the uterus. It is far easier to determine whether or not an early pregnancy is cornual versus eccentrically located within the uterus using a reconstructed coronal image of the cavity (which demonstrates the relationship between the cornua, the endometrial cavity and the cervix all in the same plane). Reconstruction of the coronal plane is also helpful in assessing gestational sac location within a bicornuate or septate uterus thus not mistaking a sac within a horn as a cornual pregnancy(fig. 5).

OVARIES

Volumetric imaging of the ovaries offers several general advantages. Compared with 2D ultrasound a 3D approach allows for more objective and quantitative documentation of follicle count, ovarian volume, stromal volume and blood flow (16,17,18).

Toghether with the conventional markers (estradiol and FSH in day 3 of menstrual cycle) there are some ultrasound markers which can predict the ovarian reserve: antral follicle counts, ovarian volume and ovarian blood flow. 3D ultrasound offers a better assessment of the antral follicles and ovarian volume. Even if the ovarian volume is minimal, detecting it is of importance. Schild et al. noted a pregnancy rate of only 6.7% (1 of 15) in patients with a minimum unilateral ovarian volume of ≤3 cm^3, which represents a single standard deviation below the mean, versus 21.9% (30 of 137) in patients with an initial minimum ovarian volume above 3 cm^3(19).

Kupesic et al. also suggest that the antral follicle count is a better predictor than 3D measures of ovarian volume and blood flow (20).

FALLOPIAN TUBES

Visualization of the fallopian tubes represents a challenge for 2D and often even for 3D ultrasound examination. The reason is that normal fallopian tubes contain very little fluid and are surrounded by gas and stool-containing bowel. The abnormalities of the tubes such as intraluminal blood or pus can enhance the possibility of tubal visualization. In any case hydrosalpinx can have a confusing sonographic appearance, often mimicking other complex annexal masses such as ovarian tumors. The 2D acquisition views of these masses are limited, sometimes making the precise diagnosis of hydrosalpinx uncertain. With the ability to display many more reconstructed planes, a 3D volume can be manipulated to demonstrate the tubal appearance of a hydrosalpinx much more clearly. In order to visualize fallopian tubes in the last years sonohysterography is used widely in infertile patients-(HyCoSy). When HyCoSy is performed with 2D sonography, the fallopian tube is unlikely to be fully evaluated in a single scanning plane. Further, the spillage of the contrast medium from the fimbrial end is difficult to distinguish from the surrounding similarly echogenic bowel. In some cases 3 D ultrasound overcomes these limitations and is effective in visualization of the fallopian tubes from the uterine cavity to the fimbrial end. Even so there are many patients in whom only the proximal portion of the fallopian tube is detected with 3D and the addition of 3D power Doppler in often very useful in these cases (21). In this technique the contrast medium is injected continuously to maintain a detectable flow through the entire fallopian tube. Using 3D rendering, the entire fallopian tube is demonstrated from the uterine cavity to the fimbrial end.

CONCLUSION

Ultrasound represents an invaluable tool in the diagnosis of gynecologic pathology. Compared with 2D technique, the 3D ultrasound offers both logistical and diagnostic advantages. 3D sonography offers a reliable and standardized tool to diagnose, differentiate and quantify uterine anomalies. 3D sonography has significantly added to our understanding of uterine anomalies qualifying their effect on reproductive outcome and thereby helping the clinician counsel patients accordingly and confidently.

There is sufficient evidence to support the advantages of 3D sonography into clinical practice in the field of reproductive medicine. In infertility the main applications include assessment of uterine congenital anomalies, intrauterine pathology, tubal patency, polycystic ovaries, ovarian follicular monitoring and endometrial receptivity. Ongoing research will likely continue to define the clinical role of 3D ultrasound and it is possible in the near future to regard to 3D as the gold standard for pelvic imaging. Our role is to continue to test it prospectively but to remain realistic and to examine how it may be most appropriately applied in the clinical setting. Although 3D sonography largely remains an exciting research tool 3D will gradually become commonplace in most units.

REFERENCES

1. Maymon R, Herman A, Ariely S, Dreazen E, Buckovsky I, Weinraub Z. Three-dimensional vaginal sonography in obstetrics and gynecology. *Hum Reprod Update* 2000 ; 6 : 475–484.
2. Pretorius DH, Nelson TR. Three-dimensional ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995 ; 5 : 219–221.
3. Lee W, Goncalves LF, Espinoza J, Romero R. Inversion mode : a new volume tool for 3-dimensional sonography. *J Ultrasound Med* 2005 ; 24 : 201-207.
4. Kupesic S. Clinical implications of sonographic detection of uterine anomalies for reproductive outcome. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001 ; 18 : 387–400.
5. Raga F, Bonilla-Musoles F, Blanes J, Osborne NG. Congenital Mullerian anomalies : diagnostic accuracy of three-dimensional ultrasound. *Fertil Steril* 1996 ; 65 : 523–528.
6. Raine-Fenning N, Fleischer AC. Clarifying the role of three-dimensional transvaginal sonography in reproductive medicine : an evidenced-based appraisal *J Exp Clin Assist Reprod* 2005 ; 2 : 10-18.
7. Woelfer B, Salim R, Banerjee S, Elson J, Regan L, Jurkovic D. Reproductive outcomes in women with congenital uterine anomalies detected by three-dimensional ultrasound screening. *Obstet Gynecol* 2001 ; 98 : 1099–1103.
8. Salim R, Regan L, Woelfer B, Backos M, Jurkovic D. A comparative study of the morphology of congenital uterine anomalies in women with and without a history of recurrent first trimester miscarriage. *Hum Reprod* 2003 ; 18 : 162–166.
9. Salim R, Woelfer B, Backos M, Regan L, Jurkovic D. Reproducibility of three-dimensional ultrasound diagnosis of congenital uterine anomalies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003 ; 21 : 578–582.
10. Kupesic S, Kurjak A. Ultrasound and Doppler assessment of uterine anomalies. In : Kupesic S, de Ziegler D editors. *Ultrasound and Infertility*. Pearl River, NY : Parthenon, 2000 ; 147-153.
11. Andreotii RF, Fleischer AC, Mason LE jr. Three-dimensional sonography of the endometrium and adjacent myometrium : preliminary observations. *J Ultrasound Med* 2006 ; 25 (10) : 1313-1319.
12. Lev-Toaff AS, Pinheiro LW, Bega G, Kurtz AB, Goldberg BB. Three-dimensional Multiplanar Sonohysterography. *J Ultrasound Med* 2001 ; 20 : 295-306.
13. Ng EH, Chan CC, Tang OS, Ho PC. Comparison of 2-dimensional, 3-dimensional, and vascular ultrasonographic parameters foe endometrial receptivity between 2 consecutive stimulated in vitro fertilization cycles. *J Ultrasound Med* 2007 ; 26 (7) : 931-939.
14. Kupesic S, Bekavac I, Bjelos D, Kurjak A. Assessment of endometrial receptivity by transvaginal color Doppler and three-dimensional power Doppler ultrasonagraphy in patients undergoing in vitro fertilization procedures. *J Ultrasound Med* 2001 ; 20 : 125-134
15. Baba K, Ishihara O, Hayashi N, Saitoh M, Taya J, Kinoshita K. Three-dimensional ultrasound in embryo transfer. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2000 ; 16 : 372-373.
16. Lam PM, Raine-Fenning N. The role of three-dimensional ultrasonography in polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2006 ; 21 (9) : 2209-2215.
17. Jarvela IY, Mason HD, Sladkevicius P et al. Characterization of normal and polycystic ovaries using three-dimensional power Doppler ultrasonography. *J Assist Reprod Genet* 2002 ; 19 : 582–590.
18. Pan HA, Wu MH, Cheng YC, Li CH, Chang FM. Quantification of Doppler signal in polycystic ovary syndrome using three-dimensional power Doppler ultrasonography : a possible new marker for diagnosis. *Hum Reprod* 2002 ; 17 : 201–206.
19. Schild RL, Knobloch C, Dorn C, Fimmers R, van der Ven H, Hansmann M. The role of ovarian volume in an in vitro fertilization program as assessed by 3D ultrasound. *Arch Gynecol Obstet* 2001 ; 265 : 67–72.
20. Kupesic S, Kurjak A. Predictors of IVF outcome by three-dimensional ultrasound. *Hum Reprod* 2002 ; 17 : 950–955.
21. Watermann D, Denschlag D, Hanjalic-Beck A. Hystero-salpingo-contrast-sonography with 3D ultrasound- a pilot study. *Ultrascall Med* 2004 : 25 (5) : 367-372.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

GLAUCOMUL - BOALĂ NEURODEGENERATIVĂ

Liliana Cerasela Tataru[1], Camelia Margareta Bogdănici[2]
Direcţia de Sănătate Publică Galaţi
1. Cabinet de Oftalmologie
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
Spitalul Clinic Judeţean de Urgenţă "Sf. Spiridon" Iaşi
2. Clinica I Oftalmologie

GLAUCOMA - NEURODEGENERATIVE DISEASE (Abstract): Glaucoma is a specific optical neuropathy, with local nerve damage and pathogenesis incompletely understood. The progressive death of retinal ganglion cells and optical neural loss suggests the following hypothesis: primary destructive event (ischemia, elevated intraocular pressure and genetic risk factors) and secondary degeneration (apoptosis and excitotoxicity). The concept of neuroprotection is a therapeutical paradigm for preventing and delaying neuronal cell death and maintaining the function of neurons. Other additional concept - neurorescue is used to prevent neuronal death by interrupting the biological cascade of secondary events. Most substances that can be found (glutamate, nitric oxide, a.o) in excess in extra cellular spaces induce damage of retinal ganglion cells, while others (memantine, gingko biloba, nicergoline, flavonoids, ascorbic acid) are used to restore these cells and their axons, i.e., neuroreparation and neuroregeneration in various degrees. This paper is an up-date of numerous studies which demonstrate that open-angle glaucoma is considered to be a neurodegenerative disease connected with alterations of the cardiovascular, central nervous, immune, endocrine, psychological systems and of sleep, requiring the introduction of glaucoma in general medical context. **Key words**: GLAUCOMA, NEURODEGENERATIVE DISEASE, NEUROPROTECTION, NEURORESCUE

Glaucomul este definit ca o neuropatie optică specifică bilaterală caracterizată prin pierderea graduală a vederii, cu moartea lentă şi constantă a celulelor ganglionare retiniene. Cercetarea numeroşilor factori care joacă un rol important în pierderea celulelor ganglionare în glaucom determină tabloul bolii (1). Deşi glaucomul este asociat cu creşterea presiunii intraoculare în 1/6 din cazuri, valoarea acesteia este normală (2).

ETIOPATOGENIE

Cunoaşterea etiopatogeniei bolii care duce la disfuncţii şi moartea celulelor ganglionare este esenţială. Ipotezele degenerării nervului optic sunt de două tipuri: primară şi secundară (3).

I. DEGENERAREA PRIMARĂ

- creşterea presiunii intraoculare

Cauza iniţială a glaucomului primitiv cu unghi deschis ar fi insulta metabolică din regiunea originii nervului optic, cu afectarea laminei cribrosa. Atunci când presiunea intraoculară este crescută, scade presiunea de perfuzie la acest nivel, fapt ce duce la apariţia glaucomului la unii pacienţi. Sunt studii care arată că în vasele nervului optic normal există mecanisme de autoreglare ce reuşesc să menţină o presiune de perfuzie normală, chiar la creşteri moderate ale presiunii intraoculare. În acelaşi context, s-a probat ipoteza conform căreia o presiune de perfuzie scăzută este corelată cu prevalenţa ridicată a glaucomului (4,5,6,7).

In situ, ischemia retiniană apare în cazul creşterii presiunii intraoculare în sistolă sau în ligaturi vasculare (8,9,10). S-a dovedit că după 120 minute de presiune intraoculară crescută s-au pierdut mai mult de 95% dintre celulele ganglionare, într-o perioadă cuprinsă între 5 şi 30 de zile de la atac.

- ischemia anterioară a nervului optic

Neuropatia optică glaucomatoasă poate fi cauzată de alterări de tip ischemic sau metabolic la nivelul originii capului nervului optic, ischemia afectând în grade diferite schimburile energetice celulare datorită insuficienţei circulaţiei la acest nivel.

- prezenţa de anticorpi autoimuni

Se pot menţiona anticorpii autoimuni, incomplet cunoscuţi, denumiţi anticorpi anti-Rhodopsine, anticorpi anti-Ro/SS-A sau anticorpi la proteoglicanii nervului optic din vecinătatea ţesutului conjunctiv al laminei cribrosa supus la agresiune mecanică (3).

II. DEGENERAREA SECUNDARĂ

- apoptoza

Procesele fiziologice şi patologice din organism (inclusiv de la nivelul celulelor ganglionare retiniene) sunt guvernate de rolurile apoptozei, strict supravegheate genetic de un echilibru între expresia genelor pro- şi antiapoptotice, dintre care cele mai importante sunt:

1. eliminarea celulelor nedorite sau care au suferit alterări structurale irecuperabile
2. menţinerea turn-overului şi a homeostaziei celulare
3. păstrarea ordinii celulare

Unele studii arată că distrugerea celulelor cu degradarea proteinelor si afectarea ADN-ului este detectată de o proteină-senzor, care activează proteina supresoare tumorală - p53. Aceasta iniţiază supresia creşterii tumorii prin blocarea ciclului celular şi activarea mecanismului de moarte celulară, având rol în creşterea activităţii unor gene pro-apoptotice şi diminuarea celor antiapoptotice (3).

Dereglarea acestui echilibru duce fie la creşterea ratei apoptozei, fie la inhibarea ei. În bolile neurodegenerative au loc creşteri ale ratei apoptozei, cu următoarele modificări biomoleculare:

1. creşterea raportului promotor/inhibitor al apoptozei în familia bcl-2
2. modificări mitocondriale (scăderea potenţialului transmembranar, eliberarea citocromului C)
3. creşterea Ca^{2+} intracelular şi scăderea concentraţiei Zn^{2+}
4. externalizarea fosfatidilserinei
5. activarea în cascadă a caspazelor şi proteoliza structurilor acestora
6. degradarea proteinelor din citoschelet
7. fragmentarea internucleozomală a ADN, cu formarea de fragmente cu lungimi caracteristice
8. activarea transaminazelor, implicate în formarea corpilor apoptotici

Studiile relatează că moartea celulelor ganglionare în afectarea glaucomatoasă este de tip apoptotic (11,12,13), un procent crescut al morţii neuronale datorându-se ischemiei (5,6,14). Între procesul de ischemie şi cel de moarte neuronală ganglionară, în glaucom, există o strânsă relaţie însoţită de prezervarea celulelor receptoare care supravieţuiesc. Inducerea morţii celulelor ganglionare retiniene a fost probată în laborator prin diferite metode, inclusiv secţionarea nervului optic de şoarece (15,16), însoţită de afectarea profundă a retinei.

Se consideră că alterarea factorilor ce menţin suportul trofic al celulelor ganglionare este una dintre principalele cauze de moarte celulară a acestora în glaucom (13, 17). Mitocondriile sechestrează calciu intracelular până la un nivel crescut (18,19) şi eliberează zincul (20) cu depolarizarea membranei şi producerea unui tip de oxigen reactiv (21). Disfuncţiile mitocondriale au fost întâlnite ca rezultat al ischemiei cu decesul celulelor prin apoptoză sau necroză. S-au descris disfuncţii mitocondriale în procesul de generare a ATP-ului din fosforilarea exudativă, care să conducă la predispunerea celulelor ganglionare la apoptoză în glaucom (7). Ideală ar fi analizarea ţesutului patologic al ochiului glaucomatos şi urmărirea clinică a pacientului un număr de ani.

- excitotoxicitatea

Deoarece pierderea vederii în glaucom este dată de moartea celulelor ganglionare retiniene, în patogeneza bolii sunt implicate trei tipuri de celule: microglia, astrocitele, celulele Müller.

Insuficienta oxigenare şi lipsa glucozei afectează lamina cribrosa, axonii celulelor ganglionare, astrocitele, microgliile şi vasele sanguine de la nivelul retinei cu eliberarea unor produşi de alterare a neutrofinelor. Prin activarea microgliilor şi astrocitelor se eliberează multipli factori în spaţiul extracelular, ca: TGFβ, TNFα, oxid nitric, D-serine şi glutamat. În acelaşi timp, activitatea celulelor Müller devine insuficientă şi se însoţeşte de eliberarea în spaţiul extracelular a unor substanţe ca glutamat, GABA, oxid nitric, D-serine, TGFβ, TNFα. Unele dintre aceste substanţe sunt toxice pentru neuroni (glutamatul şi oxidul nitric), iar altele - GABA - probabil neuroprotectoare (21,22,23,24). Celulele ganglionare sunt cele mai sensibile la acesti produşi, în comparaţie cu alţi neuroni retinieni. Nivelul crescut extracelular de glutamat sau GABA poate distruge celulele ganglionare în variate grade în funcţie de profilul receptorilor pentru aceşti neurotransmiţători din celulele individuale. Dreyer et al. descriu un nivel înalt al glutamatului în vitrosul pacienţilor cu glaucom (25). Administrarea unei doze scăzute de glutamat pe o perioadă mai mare de 3 luni are efect toxic asupra celulelor ganglionare, iar administrarea de memantine protejează aceşti neuroni (26).

În ipoteza că celulele ganglionare mor prin apoptoză, neuropatia optică glaucomatoasă nu se însoţeşte de fenomenul de inflamaţie. Din punct de vedere clinic, dispariţia corpilor celulari ganglionari şi subţierea stratului intern retinian în evoluţia glaucomului nu se însoţeşte de edem sau inflamaţie. Neufeld et al. au dovedit că nu există o relaţie între răspunsul inflamator şi glaucom, nivelul ciclooxigenazei (COX -2) şi imunoreactivitatea în nervul optic al ochilor glaucomatoşi fiind neafectate. Alţi cercetători consideră că generarea de oxid nitric - endotelină – factor de relaxare - este frecvent asociată atât cu stimularea de receptori ionotropici ai glutamatului cât şi cu inflamaţia (27,28).

Microgliile existente în capul nervului optic au rol semnificativ, întrucât atunci când nervul optic este secţionat sau se află în ischemie, eliberează NGF (nerve growth factor) in vitro, cu puterea de a distruge direct neuronii retinieni (29). S-ar putea ca în timpul ischemiei stimularea apoptozei celulelor ganglionaresă fie realizată nu doar prin eliberarea excesivă de substanţe din neuronii retinieni, ci şi prin eliberarea de mediatori ca NGF din microglii. Înseamnă că eliberarea de substanţe din microglie este asociată cu inflamaţia. Cum ischemia este asociată cu glaucomul, înseamnă că se va însoţi de un anumit grad de inflamaţie retiniană.

NEUROPROTECŢIE ŞI NEUROREGENERARE

Factorii care determină creşterea şi dezvoltarea ţesutului nervos sunt următorii: factori de creştere, citokine, factori neurotrofici şi neurotrofine. Pentru ţesutul ganglionar important este BDNF – brain derived neurotrophic factor. Experimental, s-a dovedit că în urma secţionării nervului optic de şoarece, are loc un transport retrograd de neutrofine. Aplicând pe retină BDNF sau neutrofine 4 sau 5 s-a putut preveni semnificativ degenerarea celulelor ganglionare (27,28,29,30,31) şi chiar s-a obţinut o regenerare a axonilor intraretinieni (31). Introducerea experimentală intraperitoneală de GM1, monosialoganglioside are rol în procesul de prevenţie a distrugerii celulelor ganglionare retiniene supuse procesului de ischemie/perfuzie (32,33).

În scopul prevenţiei morţii celulelor ganglionare, *Jurnalul Internaţional de Neuroprotecţie şi Neuroregenerare* a emis o diagramă de conduită cu acţiune pe 16 trepte, de la celulele Müller la celulele ganglionare:

1. prevenirea insuficienţei energetice
2. reducerea nivelului glutamatului extracelular
3. blocajul receptorilor glutamat ionotropici (NMDA-R)
4. inhibiţia de non-NMDA, Kainate/AMPA receptori glutamat ionotropici
5. blocajul canalelor de calciu cu rol în schimbul de ioni
6. inhibiţia producerii de radicali liberi
7. afectarea metabolismului glutamatului în celulele gliale
8. inhibiţia producţiei de oxid nitric
9. prevenţia acumulării glutamatului
10. prevenţia peroxidării lipidice
11. prevenirea insuficienţei mitocondriale
12. inhibarea mecanismelor apoptotice
13. prevenirea inflamaţiei
14. menţinerea suportului de neutrofine
15. blocarea canalelor de Na^+
16. inhibiţia schimburilor Na^+-Ca^{2+}

Cu acelaşi prilej, se poate descrie profilul neuroprotectorului ideal:

1. să oprească pierderea energiei iniţiale
2. să menţină integritatea şi balanţa ionică a membranei plasmatice
3. să prevină excitotoxicitatea (procesul de lezare neuronală ce rezultă din excesul de stimulare a receptorilor pentru aminoacizi)
4. să păstreze funcţia axonală normală
5. să oprească progresul unor multiple procese intracelulare patologice.

Rolul medicamentelor, a drogurilor în general, nu constă doar în atenuarea afectării celulelor ganglionare, dar şi în prevenirea acumulării unor substanţe toxice în spaţiile extracelulare rezultate prin activarea gliei retiniene. S-a propus utilizarea unui cocktail de droguri cu scopul realizării unei neuroprotecţii clinice crescute în comparaţie cu o singură substanţă. Unele medicamente se administrează local, altele pe cale orală, ambele tipuri de administrare contribuind la mărirea rolului neuroprotector în glaucom (1,34). De fapt, Pache M. şi Flammer J. subliniază în 2006 că glaucomul primitiv cu unghi deschis poate fi inclus într-un contextul medical general (35).

CONCLUZII

Glaucomul face parte din categoria bolilor neurodegenerative datorită multiplelor asocieri cu alterările cardiovasculare, ale sistemului nervos central, sistemul imun, endocrin, psihic şi al somnului. Această categorie cuprinde următoarele afecţiuni: demenţa din SIDA, ischemia acută cerebrală, toxicitatea hepatică (alcoolică), boala Alzheimer, boala Parkinson, scleroza laterală amiotrofică, degenerescenţa cerebrală, glaucomul, epilepsia şi neurotraumatismele.

Numeroase substanţe în exces (glutamatul, acidul nitric etc.) produc la nivelul spaţiilor celulare modificări prin distrugerea celulelor ganglionare, în timp ce alte substanţe (memantina, gingko biloba, acidul ascorbic sau flavonoizii) induc repararea axonilor prin neuroregenerare.

BIBLIOGRAFIE

1. *** *Terminology and Guidelines for Glaucoma*. 3rd ed. European Glaucoma Society, 2008.
2. Cernea P. *Tratat de oftalmologie*. Bucureşti: Ed. Medicală, 1997.

3. Kwon ZH, Mansberger SL, Cioffi GA. Ganglion cell death in glaucoma. *Ophthalmol Clin N Am* 2000, 3 (3).
4. Sellés Navarro I, Villegas Perez MP, Salvador SilvaM, Ruiz Gomez JM, Vidal Sanz M. Retinal ganglion cell death after different transient periods of pressure-induced ischemia and survival intervals. A quantitative in vivo study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996 ; 37 : 2002-2014.
5. Osborne NN, Melena J, Childow G, Wood JP. A hypothesis to explain ganglion cell death caused by vascular insults at the optic nerve head : possible implication for the treatment of glaucoma. *Br J Ophthalmol* 2001 ; 85 : 1252-1259.
6. Flammer J, Orgul S. Optic nerve blood-flow abnormalities in glaucoma. *Prog Ret Eye Res* 1998 ; 17 : 267-289.
7. Kong G et al. Mitocondrial dysfunction and glaucoma. *J Glaucoma* 2009 ; 18 (2) : 93-100.
8. Mosinger GL, Olney JW. Photothrombosis-induced ischemic neuronal degeneration in the rat retina. *Exp Neurol* 1989 ; 105 : 110-113.
9. Barnett NL, Osborne NN. Prolonged bilateral carotid artery occlusion induces electrophysiological and immunohistochemical changes to the rat retina without causing histological damage. *Exp Res* 1995 ; 61 : 83-90.
10. Osborne NN, Safa R, Nash MS. Photoreceptors are preferentially affected in the rat retina following permanent occlusion of the carotid arteries. *Vision Res* 1999 ; 39 : 3995-4002.
11. McKinnon SJ. Glaucoma, apoptosis and neuroprotection. *Curr Opin Ophtalmol* 1997 ; 8 : 28-37.
12. Okisaka S, Murakami A, Mizukawa A, Ito J. Apoptosis in retinal ganglion cell decrease in human glaucomatous eyes. *Jpn J Ophthalmol* 1997 ; 41 : 84-88.
13. Quigley HA. Neuronal death in glaucoma. *Prog Retin Eye Res* 1999 : 18 : 39-57.
14. Quigley HA, Nickells RW, Kerrigan LA, Pease ME, Thibault DJ, Zack DJ. Retinal ganglion cell death in experimental glaucoma and after axotomy occurs by apoptosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995 ; 36 : 774-786.
15. Garcia-Valenzuela E, Sharma SC, Pina AL. Multilayered retinal microglial response to optic nerve transection in rats. *Mol Vis* 2005 ; 11 : 225-231.
16. Kermer P, Klocker N, Weishaupt JH, Bahr M. Transection of the optic nerve in rats : studying neuronal death and survival in vivo. *Brain Res Protoc* 2001 ; 7 : 255-260.
17. Nickells R. Retinal ganglion cell death in glaucoma ; the how, the why and the maybe. *J Glaucoma* 1996 ; 5 : 354-356.
18. Budd SL, Nicholls DG. Mitochondria, calcium regulation, and acute glutamate excitotoxicity in cultured cerebellar granule cells. *J Neurochem* 1996 ; 67 : 2282-2291.
19. Kristian T, Siesjo BK. Calcium in ischemic cell death. *Stroke* 1998 ; 29 : 705-718.
20. Ugarte M, Osborne NN. Zinc in retina. *Prog Neurobiol* 2001 ; 64 : 219-249.
21. Nicholls DG, Budd SL. Mitochondria and neural survival. *Physiol Rev* 2000 ; 80 : 315-360.
22. Pease ME, McKinnon SJ, Quigley HA, Kerrigan-Baumrind LA, Zack DJ. Obstructed axonal transport of BDNF and its receptor TrkB in experimental glaucoma. *Invest Ophtalmol Vis Sci* 2000 ; 41 : 764-774.
23. Osborne NN, Chidlow G, Nash MS, Wood JPM. The potential of neuroprotection in glaucoma treatment. *Curr Opin Ophthalmol* 1999 ; 10 : 82-92.
24. Osborne NN, Cassan RJ, Wood JP, Chidlow G, Graham M., Melena J. Retinal ischemia : mechanisms of damage and potential therapeutic strategies. *Prog Retin Eye Res* 2004 ; 23 : 91-147.
25. Dreyer EB, Zurakowski D, Schumer RA, Podos SM, Upton SA. Elevated glutamate levels in the vitreous body of humans and monkeys with glaucoma. *Arch Ophtalmol* 1996 ; 114 : 299-305.
26. Vorwerk CK, Lipton SA, Zurakowski D, Human BT, Sabel BA, Dreyar EB. Chronic low-dose glutamate is toxic to retinal ganglion cells. Toxicity blocked by memantine. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996 ; 37 : 1618-1624.
27. Neufeld A, Hernandez M, Gonzalez M, Geller A. Cyclooxygenase-1 and cyclooxigenase-2 in the human optic nerve head. *Exp Eye Res* 1997 ; 65 : 739-745.
28. Dawson TM, Dawson VL. Nitric oxide synthase : role as a transmitter/mediator in the brain and endocrine system. *Annu Rev Med* 1996 ; 47 : 219-227.

29. Frade JM, Barde YA. Microglia-derived nerve growth factor causes cell death in the developing retina. *Neuron* 1998 ; 20 : 34-41.
30. Weibel D. Kreutzberg GW, Schwab ME. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) prevents lesion-induced axonal die-back in young rat optic nerve. *Brain Res* 1995 ; 679 : 249-254.
31. Sawai H, Clarke DB, Kittlerova P, Bray GM, Aguayo AJ. Brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-4/5 stimulate growth of axonal branches from regenerating retinal ganglion cells. *J Neurosci* 1996 ; 16 : 3887-3894.
32. Mohand Said S, Weber M, Hicks D, Dreyfus H, Sahel JA. Intraperitoneal injection of ganglioside GM1 after ischemia reduces retinal damage in rats. *Stroke* 1997 ; 28 : 617–621.
33. Weber M, Mohand Said S, Hicks D, Dreyfus H, Sahel JA. Monosialoganglioside GM1 reduces ischemia-reperfusion-induced injury in the rat retina. *Invest Ophtalmol Vis Sci* 1996 ; 37 : 267-273.
34. Osborne NN, Ugarte M, Chao M et al. Neuroprotection in relation to retinal ischemia and relevance to glaucoma. *Survey Ophthalmol* 1999 ; 43 : S102-128.
35. Pache M, Flammer J. A sick eye in a sick body? Systemic findings in patients with primary open-angle glaucoma. *Survey Ophtalmol* 2006 ; 51 : 179-212.

NOUTĂŢI

EVALUARE COMPARATIVĂ A ACTIVITĂŢII ANTIMICROBIENE A TREI CIMENTURI ENDODONTICE

Succesul tratamentului endodontic depinde de eliminarea microorganismelor care au contaminat spaţiul endodontic şi de sigilarea eficientă a acestuia în scopul evitării unei recontaminări ulterioare. Eşecul tratamentului endodontic de a menţine steril acest spaţiu, implică aplicarea metodelor chirurgicale adjuvante. Înafară de cimentul Portland şi MTA recent a fost introdus un nou ciment care conţine diverşi compuşi de calciu, care pare să aibă proprietăţi fizice corespunzătoare şi indicaţii, timp de lucru, pH şi stabilitate dimensională similare celor două materiale tradiţionale. Activitatea antibacteriană a celor trei tipuri de cimenturi a fost evaluată prin metoda difuziunii în agar pentru cinci tulpini de microorganisme : Enterococcus faecalis, Escherichia coli, Streptococcus mutans, Candida şi Actinomyces viscosus. Rezultatele au arătat că noul ciment este superior din punct de vedere al activităţii antimicrobiene celorlalte două materiale dar diferenţa este statistic semnificativă doar pentru cimentul Portland. La rândul său, MTA este superior semnificativ cimentului Portland. Toate cimenturile testate au fost mai eficiente împotriva S. mutans decât împotriva Candida şi E. coli, şi au fost ineficiente în inhibarea creşterii E. faecalis. Efectul a fost mai mare în cazul Candida decât E. coli, dar fără ca diferenţele să fie statistic semnificative. Rezultatele acestui studiu demonstrează efectul antibacterian şi fungicid al acestor cimenturi. Totuşi cele trei materiale sunt complet ineficiente în inhibarea E. faecalis şi probabil şi a altor bacterii anaerobe şi facultativ anaerob, similar hidroxidului de calciu utilizat în mod curent pentru antiseptizarea spaţiului endodontic. Nu este cunoscută durata acţiunii antibacteriene a acestor cimenturi şi nici efectul lor asupra altor patogeni ce pot coloniza spaţiul endodontic.Toate aceste rezultate atrag atenţia asupra obligativităţii sterilizării spaţiului endodontic anterior sigilării apicale, indiferent de calităţile cimentului utilizat. (Zarrabi MH, Javidi M, Naderinasab M, Gharechahi M. Comparative evaluation of antimicrobial activity of three cements : new endodontic cement (NEC), mineral trioxide aggregate (MTA) and Portland. *J Oral Science* 2009 ; 51 (3) : 437-442).

Gianina Iovan

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

CHIRURGIE **ACTUALITĂŢI**

CUANTIFICAREA INSUFICIENŢEI RESPIRATORII ACUTE DE CAUZĂ LARINGO-TRAHEALĂ

Cătălina Pintilie[1,2], Gabriela Burlacu[2], V. Costinescu[1,2]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Disciplina de ORL
Spitalul Clinic Judeţean de Urgenţă "Sf. Spiridon" Iaşi
2. Clinica ORL

QUANTIFICATION OF THE ACUTE RESPIRATORY INSUFFICIENCY OF LARYNGO-TRACHEAL ORIGIN (Abstract): Acute respiratory insufficiency defines that status in which the respiratory system is not able to supply the metabolic requirements of the organism. The laryngo-tracheal segment plays an important role in the respiratory function, an obstruction at this level inducing an important limitation of oxygen intake. Due to the requirement of fast repermeabilisation of this segment, it is necessary to define all criteria (clinical and laboratory examination) required to diagnose and to evaluate the respiratory failure. The present paper depicts the clinical aspects, the acid-base equilibrium impairment induced by high level airway obstruction and the functional investigations available by ventilation tests. **Key words**: ACUTE RESPIRATORY INSUFFICIENCY, LARYNGO-TRACHEAL, HIGH LEVEL AIRWAY OBSTRUCTION

Insuficienţa respiratorie acută defineşte starea în care sistemul respirator - printr-o afectare la unul din nivelurile sale - nu mai este capabil să satisfacă nevoile metabolice ale organismului. Insuficienţa respiratorie se caracterizează astfel printr-o serie de perturbări de ordin clinic şi paraclinic.

Dispneea laringo-traheală este o bradipnee inspiratorie. Se constată o creştere a profunzimii respiraţiei asociată cu mişcări de ascensiune şi coborâre a laringelui, prin tiraj suprasternal, supraclavicular, intercostal şi epigastric. Concomitent apare stridorul sau cornajul laringian. Uneori acesta poate fi perceput ca un freamăt la palparea laringelui, în inspir dedesubtul regiunii stenozate iar în expir deasupra ei. Când acest zgomot se percepe în ambii timpi, apare respiraţia seratică (ca un zgomot de ferăstrău). Dispneea laringiană obligă pacientul la o poziţie ridicată, şezândă, cu capul deflectat. În cazurile grave, bolnavul este agitat, gura este larg deschisă, expresia feţei anxioasă, tegumente cianotice şi acoperite de transpiraţii reci (1,2,3).

Dacă examenul clinic (în special laringoscopia indirectă), metodele de explorare laringiană (laringoscopia directă, laringoscopia în suspensie, fibroscopia sau examinarea endoscopică rigidă, stroboscopia etc.) şi examenele suplimentare (explorări imagistice - radiografii, tomografii computerizate, RMN, etc., i.d.r., examene anatomopatologice) precizează de obicei diagnosticul, aceste metode nu oferă însă o apreciere cantitativă a insuficienţei respiratorii.

S-a urmărit realizarea unui studiu teoretic asupra metodelor de evaluare a permeabilităţii căilor aeriene. Apreciind ca bine cunoscute caracteristicile clinice ale dispneei laringo-traheale, se insistă doar asupra metodelor exploratorii ce aduc informaţii asupra tranzitării aerului prin căile respiratorii, precum şi informaţii asupra efectului obstrucţiei acestor căi prin dozarea gazelor sanguine.

Testele funcţionale respiratorii sunt obligatorii când se suspectează o obstrucţie a căilor aeriene. Aceste explorări se pot efectua în condiţii de stabilitate respiratorie, de insuficienţă respiratorie compensată; în ceea ce priveşte criteriul obstrucţiei lumenului este necesar ca cel puţin 1/3 din acesta să fie liber.

În prezenţa fenomenelor de insuficienţă respiratorie acută când nu sunt posibile eforturile de inspir şi expir forţat, aprecierea cantitativă a insuficienţei respiratorii se face prin dozarea presiunilor parţiale ale gazelor sanguine O_2 şi CO_2. Această metodă cuantifică alterarea ventilaţiei pulmonare şi poate fi un indicator de intervenţie pentru repermeabilizarea căilor respiratorii.

A. Explorarea funcţională respiratorie

Pentru aprecierea permeabilităţii căilor aeriene este necesară efectuarea unor teste funcţionale respiratorii (4,5,6).

Spirometria şi cursa flux-volum sunt metode sensibile şi uşor de efectuat ce determină starea bronhiilor mari. Interpretarea datelor este relativ uşoară pe baza curbei obţinute dacă există numai obstrucţie traheobronşică (7,8,9). Situaţia se complică însă dacă pacientul prezintă o bronhopneumopatie cronică obstructivă (6,9). Obstrucţia traheo-bronşică poate fi fixă sau variabilă.

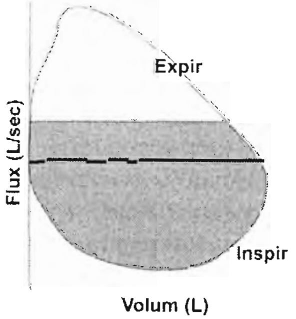


Fig. 2. Obstrucţie predominant expiratorie (căi aeriene intratoracice)

În obstrucţia fixă, diametrul căilor aeriene în inspir este egal cu cel din expir, iar fluxurile maxime în inspir şi expir sunt limitate în mod egal, pe o curbă flux-volum (fig. 1) (5). Raportul între fluxul expirator maxim şi cel inspirator maxim este 1.

Cauze de stenoze fixe: stricturi benigne (de ex. granulom postintubaţional), compresie traheală (de ex. tiroidă voluminoasă).

În cazul obstrucţiei variabile în funcţie de fazele respiratorii, cele două segmente ale traheei - cervical şi toracic - se comportă diferit în condiţii patologice. Obstrucţia variabilă intratoracică se caracterizează prin limitarea fluxului expirator maxim, cu păstrarea fluxului inspirator (fig. 2) (5). Obstrucţia extratoracică induce fenomenul invers - colapsul în inspir şi determină scăderea fluxului inspirator (fig. 3) (5).

B. Explorarea echilibrului acido-bazic

Echilibrul acido-bazic este echilibrul dinamic realizat între tendinţa de acidifiere

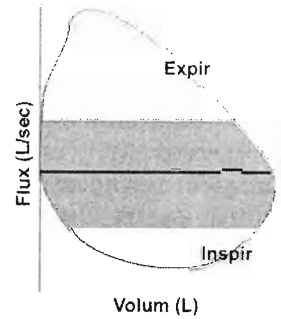


Fig. 1. Obstrucţie fixă. Fluxurile maxime în inspir şi expir sunt limitate în mod egal

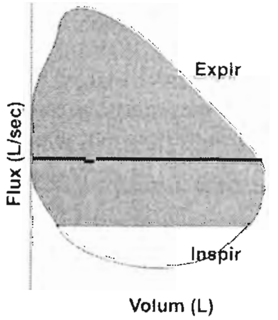


Fig. 3. Obstrucţie predominant inspiratorie (căi aeriene extratoracice)

fiziologică a mediului intern în urma metabolismelor şi sistemele tampon (4,6).

Sistemele tampon sunt acele mecanisme care tind să corecteze şi să aducă la normal pH-ul mediului intern. Deoarece tendinţa este în general de creştere a acidităţii (scăderea pH-ului), sistemele tampon antiacide sunt bine reprezentate. Principalele sisteme tampon din organism sunt:

1. sistemul tampon acid carbonic - bicarbonat;
2. sistemul tampon al fosfaţilor;
3. sistemul tampon al acizilor organici;
4. sistemul tampon al hemoglobinei.

Dintre acestea, sistemul tampon acid carbonic - bicarbonat este cel mai important şi rapid controlat, în special prin controlul respiraţiei, dependent la rândul său de valoarea presiunilor parţiale ale gazelor din sângele arterial.

Principalii parametri ai echilibrului acidobazic influenţaţi de fenomenele de insuficienţă respiratorie sunt prezentaţi în tabelul I (6).

Un alt parametru al funcţiei respiratorii care apreciază mai corect schimburile gazoase - este gradientul presiunii parţiale a O_2 alveolo-arterial ($P_{(A-a)}O_2$ gradient). În practică a apărut necesitatea acestui parametru datorită - pe de o parte celor două componente ale sistemului respirator ce realizează schimburile gazoase (din aerul atmosferic până în căile respiratorii terminale şi segmentul alveolar - de la capătul căilor respiratorii intrapulmonare până în sângele capilar pulmonar), precum şi datorită faptului că PaO_2 depinde de poziţia şi de vârsta pacientului (în ortostatism $PaO_2 = 104{,}2-0{,}27$ x vârsta în ani, în poziţie culcat $PaO_2 = 103{,}5-0{,}47$ x vârsta în ani) (5).

TABELUL I

Principalii parametrii ai echilibrului ai echilibrului acidobazic

	Valori normale
pH sanguin	7,4 (7,35-7,45)
pO_2	90-100 mmHg
pCO_2	32-40 mmHg
SO_2	95-100%
HCO_3^-	24-26 mEq/L
Baze exces	(-2) - +2
Gaura anionică	8-12 mEq/L

Gradientul $P_{(A-a)}O_2$ este un indicator sensibil al tulburărilor respiratorii care interferează cu schimburile gazoase. Este util în diferenţierea cauzelor extrapulmonare de cele pulmonare ale hipercapneei şi hipoxemiei. Valoarea normală a acestui parametru este de 5-10 mmHg. La orice vârstă, un gradient care depăşeşte 20 mmHg este anormal şi indică o disfuncţie pulmonară; în hipoventilaţia prin disfuncţie în compartimentul extrapulmonar, gradientul alveolo-arterial este normal.

Aceşti parametri sunt modificaţi în insuficienţa respiratorie acută şi variaţiile lor oferă informaţii utile atât diagnostice şi terapeutice.

Obstrucţia căilor respiratorii înalte duce la apariţia acidozei respiratorii.

Acidoza respiratorie se defineşte ca o creştere primară a $PaCO_2$. Această creştere duce la producerea în exces a H^+ (conform reacţiei $H_2O+CO_2 -H_2CO_3 - H^+ +HCO_3^-$). Această creştere a concentraţiei de H^+ va produce o scădere a pH-ului sanguin.

$PaCO_2$ reprezintă raportul dintre CO_2 produs şi CO_2 eliminat (3).

$$PaCO_2 = \frac{CO_2\,produs}{ventilatie\_alveolara}$$

Producerea de CO_2 nu prezintă variaţii apreciabile în diferite circumstanţe, fiind un indice relativ constant. Creşterea $PaCO_2$ se va produce deci prin scăderea ventilaţiei alveolare.

DISCUŢII

Din punct de vedere spirometric, criteriile de diagnostic pentru obstrucţia căilor aeriene pot fi sistematizate (5):

- Flux inspirator instantaneu la 50% din capacitatea vitală (CV) sub 100/min;
- Raportul între fluxul expirator instantaneu la 50% din CV şi fluxul inspirator instantaneu la 50% din CV peste 1;
- Raportul între volumul expirator maxim într-o secundă exprimat în mililitri şi fluxul expirator maxim exprimat în L/min peste 10mL/L/min;
- Raportul între volumul expirator maxim într-o secundă şi cel într-o jumătate de secundă peste 1,5.

Un obstacol în căile aeriene superioare - aşa cum sunt şi îngustările laringo-traheale - duce la o scădere a ventilaţiei alveolare prin reducerea aportului de oxigen. Consecinţa unei asemenea îngustări este pe de o parte o scădere a PaO_2 şi pe de altă parte o creştere a $PaCO_2$, în condiţiile scăderii pH-ului sanguin.

Acidoza respiratorie - consecinţa creşterii $PaCO_2$ datorată îngustării căilor aeriene superioare - se poate prezenta în două stadii (4,6):

- Acidoza respiratorie acută

Răspunsul compensator la o creştere la o creştere acută (6-12 ore) a $PaCO_2$ este limitat. Sistemul tampon care intervine primar este cel al hemoglobinei prin creşterea afinităţii acesteia pentru oxigen. De asemenea, se produce schimbul de H^+ extracelular cu Na^+ şi K^+ din mediul intracelular. Apare astfel o hiperkaliemie - valoarea plasmatică a K crescând cu aproximativ 0,6 mEq/L pentru fiecare scădere cu 0,10 a pH-ului. În stadiul acut al acidozei respiratorii, răspunsul renal - de reţinere a bicarbonatului - este foarte limitat; ca rezultat, concentraţia plasmatică a HCO_3^- creşte doar în jur de 1mmol/L pentru fiecare 10 mmHg creştere a $PaCO_2$ peste 40 mmHg.

- Acidoza respiratorie cronică

Acidoza respiratorie cronică se caracterizează prin compensare renală „completă". Acest mecanism de reglare renală începe la 12-24 ore şi atinge maximul la 3-5 zile. În această fază, concentraţia plasmatică a HCO_3^- creşte cu aproximativ 4 mmol/L pentru fiecare 10 mmHg de creştere a $PaCO_2$ peste 40 mmHg.

CONCLUZII

Insuficienţa respiratorie acută se manifestă, clinic, prin simptomatologie zgomotoasă (bradipnee inspiratorie însoţită de tiraj şi cornaj, instalate rapid în decurs de minute sau ore). Din punct de vedere al echilibrului acido-bazic, apare acidoza respiratorie acută cu instalarea în scurt timp a acidemiei, hipercapniei şi creşterea moderată a bicarbonatului; se ambalează rapid mecanisme compensatorii cu acţiune imediată, dar eficienţa lor este limitată şi pH-ul nu va fi niciodată normal.

Insuficienţa respiratorie cronică va avea o simptomatologie mai puţin spectaculoasă, datorită adaptării în timp la un calibru mai redus al căilor respiratorii. Acidoza respiratorie cronică, prin instalarea lentă în luni sau ani, se caracterizează prin pH normal sau acidemie, hipercapnie şi creşterea marcată a bicarbonatului; în acest caz se activează la maxim mecanismul renal de compensare care poate aduce la normal pH-ul sanguin. Insuficienţa respiratorie cronică compensată poate fi apreciată şi din punct de vedere spirometric, cu modificarea acelor parametri relativ specifici pentru obstrucţia căilor aeriene superioare (de ex. scăderea VEMS, flux inspirator mai mic de jumătate din CV etc.).

Aceşti parametri permit aprecierea cantitativă şi a insuficienţei respiratorii de cauză laringo-traheală şi constituie indicatori importanţi de instituire rapidă a manevrelor de repermeabilizare a căilor respiratorii.

BIBLIOGRAFIE

1. Becker W, Naumann HH, Pflatz CR. *Precis d'ORL.* Paris: Flammarion, 1986.

2. Portmann M. *Precis d'oto-rhino-laryngologie*. Paris: Masson, 1982.
3. Rădulescu GM, Pascariu M, Sarafoleanu C, Sarafoleanu D. *Urgenţele ORL*. Bucureşti: Ed. Coresi, 1998.
4. *** *Irwin and Rippe's Intensive Care Medicine*. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
5. Sarafoleanu D. *Explorarea paraclinică şi funcţională în otorinolaringologie*. Bucureşti: Ed. Albatros, 2000.
6. Grigoraş I. *Anestezie şi terapie intensivă. Principii de bază*. Iaşi: Ed. Institutul European, 2007.
7. Paluska SA, Lansford CD. Laryngeal trauma in sport. *Curr Sports Med Rep* 2008; 7 (1): 16-21.
8. Lehoczki CL, Carvalho D, Tah Yen Ng R, Gusmão RJ. Nasolaryngoscopy or laryngotracheoscopy: which is the best exam for assessing the airways of children? *Braz J Otorhinolaryngol* 2006; 72 (4): 487-490.
9. Way C, Hartley BE, Glaisyer H. Glottic scar bands following intubation. *Paediatr Anaesth* 2006; 16 (6): 689-692.

NOUTĂŢI

FLAVONOLII ŞI PROCIANIDINELE DIN CACAO POT MODULA ACTIVAREA POLIMORFONUCLEARELOR DE CĂTRE LIPOPOLIZAHARIDUL BACTERIAN *IN VITRO*

Flavonolii şi procianidinele izolate din cacao posedă multiple activităţi potenţial relevante pentru apărarea antioxidantă, funcţia vasculară şi funcţia imună. Conform unor studii *in vivo* şi *in vitro*, cacao poate fi un modulator anti-inflamator iar compuşi izolaţi din cacao sunt capabili de a modula producţia de eicosanoid şi agregarea trombocitelor. Studiul realizat de Kenny TP şi colaboratorii extinde aceste constatări prin examinarea efectelor in vitro ale procianidinelor din cacao asupra polimorfonuclearelor şi demonstrează că anumiţi flavonoli şi procianidine izolate din cacao pot modera un subset de căi de semnalizare derivate în urma stimulării polimorfonuclearelor de către lipopolizaharid şi pot influenţa mecanismele apoptozei. Flavonolii şi procianidinele pot reduce impactul lipopolizaharidului asupra capacităţii polimorfonuclearelor de a genera specii reactive de oxigen, interferând cu activarea căii proteinkinazei mitogen-activată. (Kenny TP, Shu SA, Moritoki Y. Cocoa flavanols and procyanidins can modulate the lipopolysaccharide activation of polymorphonuclear cells in vitro. *J Med Food* 2009; 12: 1-7).

Teodora Vremerea

EFECTELE ANTIPLACHETARE ALE STATINELOR SUNT MEDIATE LA NIVELUL PPARS

Statinele şi fibraţii sunt agenţi terapeutici hipolipemianţi care şi-au dovedit eficienţa în scăderea riscului cardiovascular, prin numeroase alte mecanisme pleiotrope. Unele dintre aceste mecanisme, precum inhibarea funcţiei antiplachetare, au fost insuficient cunoscute până în prezent. Un studiu recent care a utilizat antagonişti ai PPARα şi PPARγ a demonstrat implicarea acestor familii de receptori în realizarea funcţiilor antiplachetare ale hipolipemiantelor. Efectul simvastatinei a fost prevenit prin utilizarea antagonistului GW9662 al PPARγ şi al antagonistului GW6471 al PPARα. Efectele fenofibratului au putut fi prevenite prin acelaşi antagonism al PPARá cu ajutorul GW6471, urmată şi de activarea PKCα. Studiul evidenţiază, pentru prima dată în literatură, o cale comună prin care atât statinele cât şi fibraţii inhibă activarea plachetară şi contribuie la scăderea implicită a riscului cardiovascular (Ali FY, Armstrong PCJ et al. Antiplatelet actions of statins and fibrates are mediated by PPARs. *Arteriosclerosis, Thromb Vasc Biol* 2009; 29: 706)

Corina Dima-Cozma

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

CHIRURGIE **ARTICOLE ORIGINALE**

CANCERUL HEPATIC PRIMAR ŞI SECUNDAR - POSIBILITĂŢI DE ABORD CHIRURGICAL ÎN CORELAŢIE CU STADIUL EVOLUTIV

C. Burcoveanu[1], S. Ştefan[1], Alina Ursache[1], Adriana Pricop[2]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
Clinica a III^{-a} Chirurgie şi Centrul de Cercetare în
Chirurgia Oncologică şi Training în Chirurgia Generală
1. Secţia a IV^{-a} Chirurgie
2. Departamentul Imagistică

PRIMARY AND SECONDARY HEPATIC CANCER - SURGICAL TREATMENT PARTICULARITIES IN CORELATION WITH THE EVOLUTIVE STAGE (Abstract): Given the necessity of increasing their resectability, there are evaluated the possibilities of surgical treatment for these types of hepatic cancer, in the context of dominant clinical presence of advanced hepatic tumors. **Material and method**: The study comprises 190 patients during 01.01.2000-31.12.2007, in the IIIrd Surgical Clinic, Iaşi, with primary and secondary hepatic tumors. **Results**: There were made typical and atypical hepatic resections, metastasectomies - 36 cases, alcoholisation - 11 cases, and radiofrequency ablation - 19 cases. Mortality was 4.73%. This study makes a critical analysis of the surgical treatment methods use, given the apparition of radiofrequency thermodistruction and the surgical technology evolution. Key words: HEPATIC CANCER, SURGICAL TRATMENT, RADIOFREQUENCY, ABLATION

În cancerul hepatic primar şi secundar tratamentul este multimodal. Rezecţia hepatică reprezintă cea mai eficientă metodă terapeutică cu viză curativă în acest tip de cancer, supravieţuirea la 5 ani fiind pentru cancerul primar 25-50%, iar pentru cel secundar 20-40% (1).

Rezecabilitatea în cancerul primar (carcinom hepatocelular) este sub 30-50% (2,3), iar în cancerul secundar (metastaze de neoplasm colo-rectal) nu depăşeşte 20-51% (4).

MATERIAL ŞI METODĂ

Lotul studiat cuprinde un grup de 190 pacienţi, retrospectiv, pentru perioada 2000-2007. S-au observat tumori hepatice primitive în 114 cazuri şi tumori hepatice secundare în 76 cazuri, vârsta medie fiind de 59,5 ani (extreme 38 - 94 ani). Repartiţia pe sexe a fost în cazul tumorilor primare m/f: 62/38%, în tumori secundare m/f: 53/47%.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

În cazul cancerului hepatic primitiv, 110 cazuri au fost reprezentate de carcinom hepatocelular, colangiocarcinomul intra-hepatic fiind întâlnit în 4 cazuri.

Caracteristicile tumorale au fost următoarele:

-Tumoră unică: 91 cazuri (79,82%)

-Tumoră+noduli sateliţi: 19 cazuri (16,66%)

-Forme multicentrice: 4 cazuri (3,50%)

-Dimensiuni:

- <2 cm: 9 cazuri (7,89%)
- 2-5 cm: 50 cazuri (43,85 %)
- >5 cm: 55 cazuri (48,24%)

Tumora a fost localizată în lobul drept în 38% cazuri, în lobul stâng 35%, restul fiind bilobare. S-au evidenţiat 40 forme monosegmentare şi 74 multisegmentare (6).

Formele complicate au fost următoarele:

- Invazie vasculară vena portă: 9 cazuri
- Invazie perihepatică: 11 cazuri
- Forme complicate (ruptură tumorală-hemoperitoneu) : 4 cazuri
- Metastaze extrahepatice:
  - peritoneale 8 cazuri
  - suprarenală 1 caz
- Evacuare fragment tumoral în CBP
- Icter+angiocolită: 1 caz
- Compresiune confluent biliar superior
- Icter: 1 caz
- Necroză tumorală 7 cazuri,

în total 42 cazuri (36,84%).

În legătură cu starea ficatului, s-a observat ficat normal în 50 de cazuri, restul fiind cu ciroză hepatică:

-Child A - 16 - 25%

-Child B - 15 şi Child C - 33 - 75%

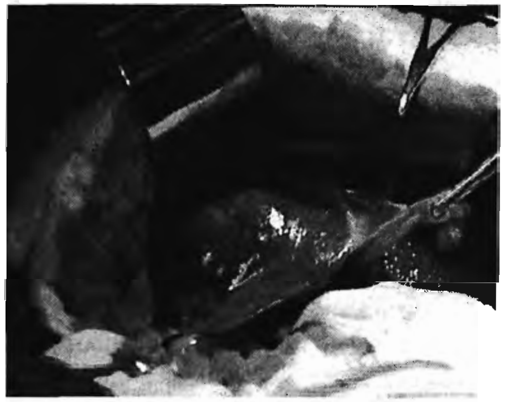


Fig. 1. Cancer hepatic primitiv

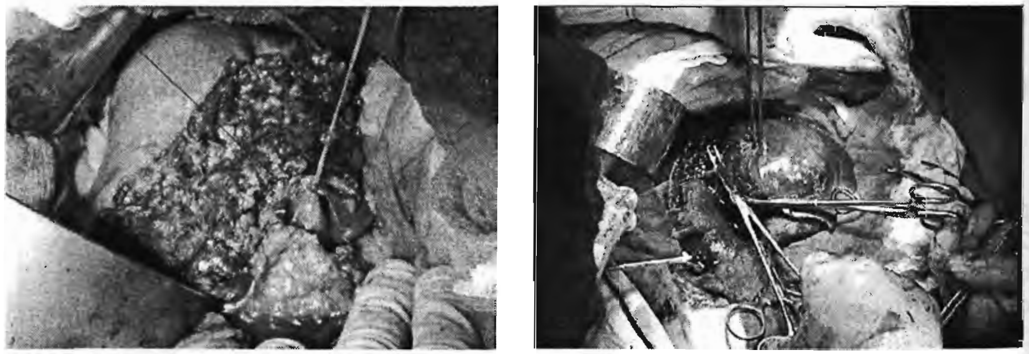


Fig. 2. Cancer hepatic primitiv, aspecte intraoperatorii

Clasificarea TNM 2002 (AJCC) a relevat

- o T 1 în 2 cazuri (1,75%),
- o T 2: 7 (6,14%),
- o T 3: 75 (65,7%),
- o T 4: 30 (26,3%),

iar tarele asociate au fost prezente la 72,8% (inclusiv hepatită B, C).

Studiul prezentat cuprinde descrierea a 76 cazuri de cancer hepatic secundar, fiind reprezentat de metastaze sincrone - 51 (67%) şi metacrone - 25 (32%). Ca şi număr, 33 au fost unice şi multiple 43 (numeric, ≤4: 20; >4: 23)

Dimensiunile acestora s-au încadrat în urmatoarele categorii: 52 cazuri ≤5 şi 24 >5, fiind monolaterale în 49 de cazuri şi bilaterale în 27.

Câţiva pacienţi au prezentat simultan MTS extrahepatice: carcinomatoză peritoneală - 4 şi metastaze pulmonare - 2. Tarele asociate au fost prezente la 42% dintre pacienţi.

Localizarea tumorii primare a fost pe colonul drept: 21, colonul stâng: 31, rect: 24.

TRATAMENT

Pentru cancerul hepatic primitiv s-au înregistrat 85 abordări chirurgicale, constând în:

-Rezecţii : 38 cazuri

-Termodistrucţie radiofrecvenţă: 6 cazuri (termodistrucţie + rezecţie atipică 2 cazuri)

-Ligatură ram portal drept : 1 caz

-Coledocotomie, extragere fragment tumoral + endoprotezare CBP + cateterizare ram drept artera hepatică: 1 caz

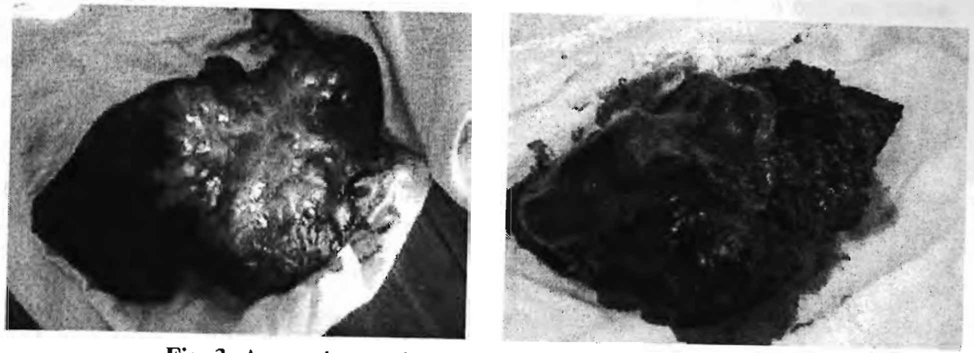


Fig. 3. Aspectul unor piese de rezecţie, cancer hepatic primitiv

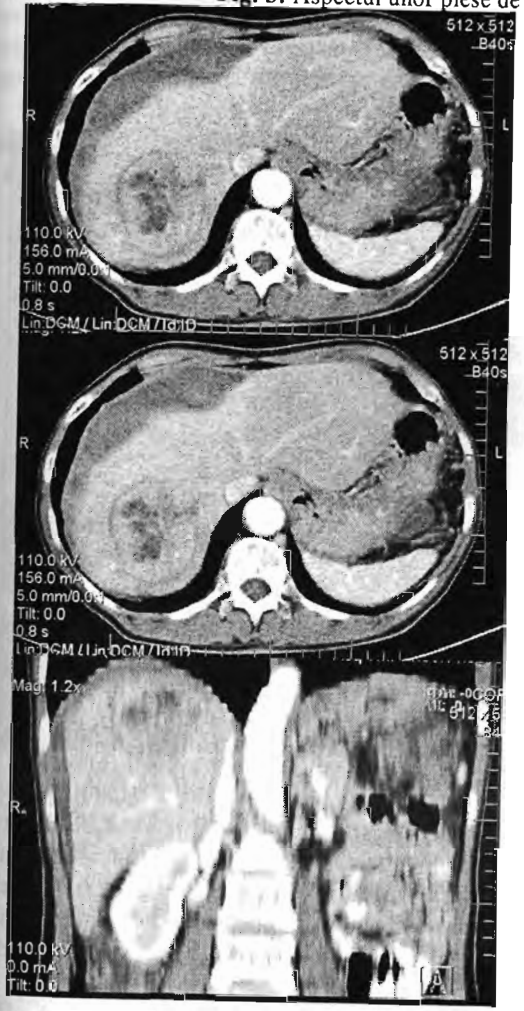


Fig. 4. CHC - aspecte CT

-Laparotomii exploratorii : 11 cazuri

-Laparoscopii diagnostice : 28 cazuri (s-au observat: starea ficatului, noduli "surpriză", invazie extrahepatică, biopsie)

Neoperaţi: 29 cazuri.

Pentru cancerul hepatic secundar au fost 76 cazuri abordate chirurgical, dintre acestea au fost operate într-un timp 12 cazuri şi în 2 timpi: 64 cazuri. Intervenţiile efectuate pot fi sistematizate astfel:

-Metastazectomii – rezecţii atipice: 36 cazuri

-Rezecţii majore: 6 cazuri

- hepatectomie dreaptă -2 cazuri
- lobectomie stângă -1 caz
- hepatectomie stângă -2 cazuri
- sectorectomie posterioară dreaptă cu extensie la V – un caz

-Termoablaţie (5) prin:

- RF (iterativ 1 caz; termoablaţie + metastazectomii 2 cazuri): 13 cazuri
- Alcoolizare: 11 cazuri
- Laparoscopie diagnostică: 4 cazuri
- Laparotomie exploratorie: 6 cazuri

Vom prezenta câteva imagini CT ale unui caz de cancer hepatic primitiv (fig. 5).

Mortalitatea postoperatorie a fost de 9 cazuri: 4,73% ; 4 cazuri au decedat postrezecţie (5%).

DISCUŢII

Amploarea gestului chirurgical a fost in mare parte limitată, datorită unor factori cum ar fi: restrângerea rezervei funcţionale

TABELUL I
Rezecţii hepatice, 38 cazuri

Tipul de rezecţie	Nr. cazuri	Observaţii
Segmentectomii	**6**	VI – 6 cazuri
Bisegmentectomii	**9**	II,III (lobectomie stg.) – 9 cazuri
Trisegmentectomii	**2**	III+VI,VII – 1 caz, III, IV b,V – 1 caz
Rezecţii atipice	**17**	IV b,V,VI – 2 cazuri VI,VII (+ enucleorezecţie nodul satelit)-1 caz IV b,V – 2 cazuri II,III – 1 caz; II – 2 cazuri V,VI – 2 cazuri IV b – 1 caz VII,VIII – 2 cazuri VI – 1 caz, VII – 1 caz VIII – 2 cazuri
Hepatectomie stângă	**3**	-
Hepatectomie stângă extinsă la V	**1**	II,III,IV, parţial V

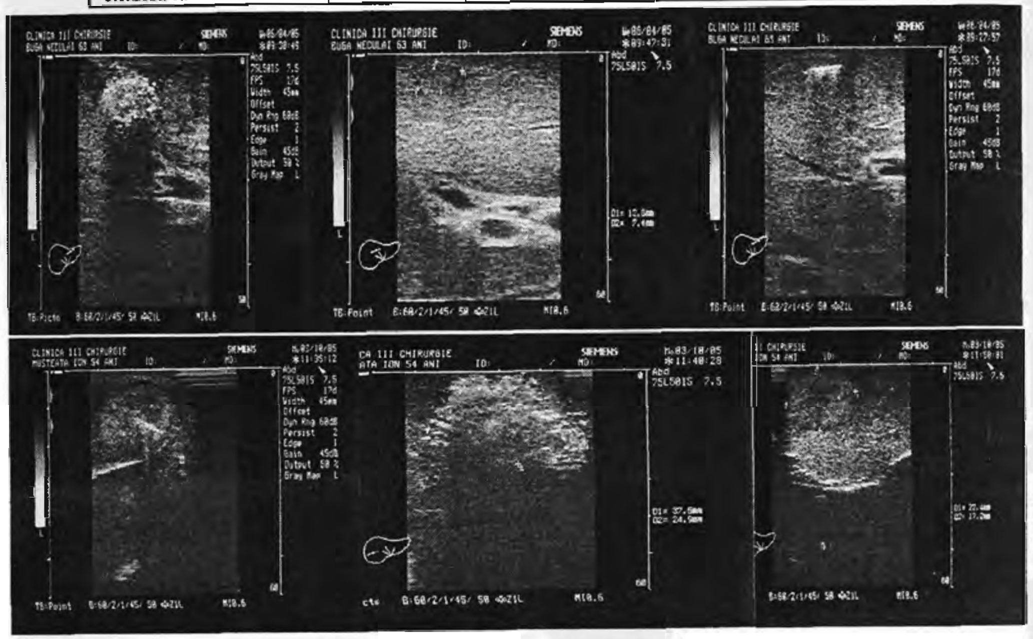


Fig. 5. Aspecte de ecografie intraoperatorie

hepatice (75% din cazuri fiind Child B si C), prezenţa formelor local avansate, cu bilateralitatea tumorii hepatice, prezenţa metastazelor multiple şi a localizărilor extrahepatice.

Probabil ca alţi operatori ar fi extins gestul chirurgical, mai ales sub oportunitatea folosirii unor tehnici de evaluare şi/sau pregătire preoperatorie cum ar fi :

1) mapping-ul vascular hepatic, care permite programarea realizării unor rezecţii hepatice reglate, atipice, cu conservarea unei mase de parenchim funcţional mai mari, ţinând cont de structura vasculară hepatică disponibilă şi

2) embolizarea portală - o metodă eficientă în inducerea unei hipertrofii preoperatorii a parenchimului hepatic.

Menţionăm de asemeni progresele realizate în rezecţia hepatică folosind tehnica robotică, autotransfuzia, folosirea aspiratorului de disecţie cu ultrasunete, inducerea micşorării semnificative a tumorii prin administrare de agenţi chimioterapici şi altele. Deocamdată procedeele mai sus menţionate sunt parţial accesibile în departamentul nostru.

CONCLUZII

În cancerul hepatic primitiv, formele local avansate, în combinaţie cu afectarea rezervei funcţionale hepatice secundare cirozei, reprezintă realitatea clinică ce limitează indicaţiile rezecţiilor şi amploarea acestora.

În contextul tratamentului multimodal, necesitatea diagnosticului anatomo-patologic impune efectuarea biopsiei ; laparoscopia diagnostică reprezintă o opţiune convenabilă, inclusiv în cazurile aparent inoperabile. Rezecţiile atipice şi limitate pot îndeplini, în anumite condiţii, dezideratele rezecabilităţii, în contextul prezervării parenchimului hepatic.

În cancerul hepatic secundar, atitudinea agresivă asupra metastazelor cancerului colorectal reprezintă principala opţiune cu vizǎ curativă, rezecabilitatea fiind limitată de stadiul evolutiv al tumorii primare şi particularităţile diseminării metastatice în raport cu structura şi masa funcţională hepatică.

Metodele diverse de distrucţie tumorală, în special termoablaţia prin radiofrecvenţă, reprezintă o alternativă fiabilă abordului chirurgical, înlocuind sau completând rezecţia.

BIBLIOGRAFIE

1. Yoon SS, Tanabe KK. Surgical treatment and other regional treatments for colorectal cancer liver metastases. *Oncologist* 1999 ; 4 (3) : 197-208.
2. Primrose JN : Treatment of colorectal metastases : surgery, cryotherapy, or radiofrequency ablation. *Gut* 2002, 50 : 1-5.
3. Weitz J, Koch M, Debus J, Hohler T, Galle PR, Buchler MW. Colorectal cancer. *Lancet* 2005 ; 365 : 153-165.
4. Fong Y, Cohen AM, Fortner JG et al. Liver resection for colorectal metastases. *J Clin Oncol* 1997 ; 15 : 938-946.
5. Iwatsuki S, Esquivel CO, Gordon RD, Starzl TE. Liver resection for metastatic colorectal cancer. *Surgery* 1986 ; 100 : 804-810.
6. Bosch FX, Ribes J, Diaz M, Cleries R. Primary liver cancer ; worldwide incidence and trends. *Gastroenterol* 2004 ; 127 (Suppl 1) : s5-s16.
7. Tomlinson JS, Jarnagin WR, DeMatteo RP et al. Actual 10-year survival after resection of colorectal liver metastases defines cure. *J Clin Oncol* 2007 ; 25 : 4575-4580.
8. Redaelli CA, Wagner M, Krahenbuhl L et al. Liver surgery in the era of tissue-preserving resections : early and late outcome in patients with primary and secondary hepatic tumors. *World J Surg* 2002 ; 26 : 1126-1132.
9. Tjandra JJ, Fan ST, Wong J. Peri-operative mortality in hepatic resection. *Aust N Z J Surg* 1991 ; 61 : 201-206.
10. Zhou XD, Tang ZY, Yang BH et al. Experience of 1000 patients who underwent hepatectomy for small hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2001 ; 91 : 1479-1486.
11. Wei AC, Tung-Ping Poon R, Fan ST, Wong J. Risk factors for perioperative morbidity and mortality after extended hepatectomy for hepatocellular carcinoma. *Br J Surg* 2003 ; 90 : 33-41.
12. Takano S, Oishi H, Kono S et al. Retrospective analysis of type of hepatic resection for hepatocellular carcinoma. *Br J Surg* 2000 ; 87 : 65-70.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

CHIRURGIE **ARTICOLE ORIGINALE**

PREOPERATIVE ULTRASONOGRAPHY AS A MEAN OF PREDICTING THE CONVERSION OF MINI CHOLECYSTECTOMY INTO CLASSIC CHOLECYSTECTOMY

A.C. Ilie[1,2], C. Nica[2], I.A. Szucsik[3], A. Motoc[1], A. Sava[2], S. Grosu[2]
"V. Babeş" University of Medicine and Pharmacy Timişoara
School of Medicine
1. Departament of Anatomy
Timişoara County Hospital
2. IIIrd Surgical Clinic
Timişoara Railways Hospital
3. IIIrd Surgical Clinic

PREOPERATIVE ULTRASONOGRAPHY AS A MEAN OF PREDICTING THE CONVERSION OF MINI CHOLECYSTECTOMY INTO CLASSIC CHOLECYSTECTOMY (Abstract): Cholecystectomy is considered to be the treatment of choice in symptomatic biliary lithiasis. Lately, due to medical progress, classic cholecystectomy has been gradually replaced by laparoscopic cholecystectomy and by mini cholecystectomy. Therefore, it is very important to determine certain preoperative factors which might predict the conversion of mini cholecystectomy (MC) into classic cholecystectomy (CC). **Material and method**: The possibility of selecting high-risk conversion patients has important clinical implications, both for the surgeon and for the patient. Differentiating preoperative risk allows the surgeon to inform the patient about a high conversion risk to CC, and about the ensuing consequences: longer hospitalization period, longer postoperative recovery, greater costs. All the patients were examined by ultrasonography. The tests recorded six parameters: the diameter of the biliary duct (mm), the number of calculi, the diameter of the largest calculus (mm), the contracted aspect of the gallbladder, the distance between the tegument and the gallbladder fundus (cm), the distance between the tegument and the cystic duct (cm). All the variables were introduced into an initial model, which was checked using the colinearity method and significant observations, and subsequently reduced by eliminating insignificant predictive factors, revealed by Wald tests. **Results**: The significant predictive conversion factors to CC, quantified on the basis of regression analysis, are: age >70, calculus with a diameter >20 mm, biliary duct with a diameter >6 mm, contracted gallbladder, distance between the tegument and gallbladder fundus >7.2 cm, distance between the tegument and cystic duct >17.1 cm. **Conclusion**: Being a procedure that can be carried out on an outpatient basis and with rather low costs, ultrasonography plays a very important role in the preoperative prediction of converting MC to CC. **Key words**: MINI CHOLECYSTECTOMY, ULTRASONOGRAPHY, CONVERSION TO CLASSIC CHOLECYSTECTOMY

Cholecystectomy is considered to be the elective treatment in symptomatic biliary lithiasis. Lately, due to medical progress, classic cholecystectomy has been gradually replaced by laparoscopic cholecystectomy and by mini cholecystectomy (1,2,3). Therefore, it is very important to determine certain preoperative factors which might predict the conversion of mini cholecystectomy (MC) into classic cholecystectomy (CC).

The present study was conducted on a group of 1190 patients. Ultrasonography was used to predict a number of factors that might indicate the necessity of converting MC into CC: size of calculi, diameter of biliary duct, number of calculi, distance between tegument and cystic duct, distance between tegument and gallbladder fundus, aspect of the gallbladder (4,5).

The possibility of selecting high-risk conversion patients has important clinical implications, both for the surgeon and for the patient. Differentiating preoperative risk allows the surgeon to inform the patient about a high conversion risk to CC, and about the ensuing consequences: longer hospitalization period, longer postoperative recovery, greater costs (6,7).

Most studies focused on factors that facilitate the prediction of conversion to laparoscopic cholecystectomy (8,9,10,11). These studies indicated the following preoperative predictive factors for conversion to laparoscopic cholecystectomy: old age, acute cholecystitis, obesity, thickened gallbladder wall (10).

MATERIAL AND METHODS

The patients were hospitalized between January 1st 2004 - December 31st 2008 in the IIIrd Surgical Department of the Timişoara Railways Hospital and the IIIrd Surgical Department of the Timişoara County Hospital.

All the patients were examined by ultrasonography. Where ultrasound was not possible or was not considered appropriate, it was repeated in the preoperative stage, in order to obtain quantifiable results of the standardized measurements of the study. Ultrasound was also performed in the case of acute patients.

The tests recorded six parameters: the diameter of the biliary duct (mm), the number of calculi, the diameter of the largest calculus (mm), the contracted aspect of the gallbladder, the distance between the tegument and the gallbladder fundus (cm), the distance between the tegument and the cystic duct (cm).

The most important result was the conversion to CC (1 = yes; 0 = no). The predictive factors used in the assessment were: age (>70 = 1; <70 = 0), number of calculi, diameter of largest calculus (>20 mm = 1; <20 mm = 0), diameter of biliary duct (>6 mm = 1; <6 mm = 0), contracted gallbladder (1 = yes; 0 = no), distance between the tegument and gallbladder fundus (>7.2 cm = 1; <7.2 cm = 0), distance between tegument and cystic duct (>17.1 cm = 1; <17.1 cm = 0). The relation between the predictive factors and the final result was assessed through a series of regression logistic tests. An interaction term was established for those patients who had several associated factors. All the variables were introduced into an initial model, which was checked using the colinearity method and significant observations, and subsequently reduced by eliminating insignificant predictive factors, revealed by Wald tests (12).

RESULTS

Of a total of 1274 cholecystectomies, 1190 were considered suitable for minilaparotomy. 84 had been initially excluded as preoperative assessment revealed the existence of a pathology that could not be approached by mini cholecystectomy (tab. I).

Of the 1190 patients who underwent mini cholecystectomy, 155 were aged >70, 950 were women, 206 had a gallbladder calculus of at least 20 mm in diameter, 134 had a biliary duct >6 mm in diameter, and 64 had a contracted gallbladder. In 42 cases (3.5% of the total number of cases), conversion to CC was necessary. The significant predictive conversion factors to CC, quantified on the basis of regression analysis, are: age >70, calculus with a diameter >20 mm, biliary duct with a diameter >6

TABLE I

Causes of traditional surgical cholecystectomy

Causes	No. cases = 84
Acute pancreatitis	9
Jaundice	26
Dilated MBD(calculi >10 mm)	23
Tumour in the upper abdominal quadrant	15
Other surgery in the upper abdominal quadrant	11

TABLE II

Conversion risk factors in clasic cholecystectomy

Variable	p value	OR	95% CI OR
Age>70	0.001	6.2	2.7 - 14.6
Biliary calculus diameter >20 mm	0.042	2.9	1.04 – 8.0
Biliary duct diameter >6 mm	0.033	2.8	1.09 – 7.1
Contracted gallbladder	0.002	6.3	1.09 – 20.2
Distance between the tegument and cystic duct	0.001	6.5	2.1 - 12.8
Distance between the tegument and gallbladder fundus	0.001	6.1	2.3 - 15.8

TABLE III

Conversion ratio in the risk groups with mini cholecystectomy

Subgroups patients	Conversion ratio
A) High risk (total n = 178)	
Age >70, with associated risk factor (n=109)	(n=19) 17.5%
Age <70, with 2 or more risk factors (n=69)	(n=10) 14.4%
B) Low risk (n = 1012)	
Age >70, without any other risk factor	(n=13) 1.3%
Age <70, with another risk factor	

mm, contracted gallbladder, distance between the tegument and gallbladder fundus > 7.2cm, distance between the tegument and cystic duct > 17.1cm (tab. II).

Based on these results, a single set of criteria was defined and tested in order to establish their clinical relevance. The patients were divided into two subgroups, for a better assessment of their postoperative conversion risk (tab. III):

A. The subgroup of preoperative high conversion risk patients, consisting of:

1. Patients aged >70 who had another associated risk factor (109 patients);
2. Patients aged <70 who had one or more associated risk factors (69 patients).

Of the 109 patients aged >70 and an associated risk factor, 19 required MC conversion to CC. Of the 69 patients aged <70 and two or more associated risk factors, conversion to CC was required in 10 cases.

Of the total of 178 patients included in the high conversion risk subgroup, conversion was necessary in 29 cases (16.3%).

B. The subgroup of patients with low conversion risk, consisting of:

1. Patients aged >70 without any other associated risk factor;
2. Patients aged <70 with one associated risk factor.

Of the total of 1012 patients included in the low conversion risk subgroup, conversion was necessary in 13 cases (1.3%).

The classification into risk groups contributed to a better assessment of the risk of conversion from MC to CC.

DISCUSSIONS

The aim of our study was to demonstrate that, based on ultrasound exams, certain factors such as calculus with a diameter >20 mm, biliary duct with a diameter >6 mm, contracted gallbladder, distance between the tegument and gallbladder fundus >7.2 cm, distance between the tegument and cystic duct >17.1 cm may be considered predictive factors for MC conversion to CC.

Two subgroups were established using these risk factors:

- High conversion risk subgroup, consisting of 178 patients; conversion was necessary in 29 cases (conversion ratio = 16.3%);
- Low conversion risk subgroup, consisting of 1012 patients, conversion was necessary in 13 cases (conversion ratio = 1.3%).

The results of the study are relevant for most surgeons as it was carried out on a random consecutive series of 1190 patients, with a wide range of hepatobiliary disorders, admitted in two surgical departments.

A shorter hospitalization time means lesser morbidity for MC vs. CC, which leads to substantial savings both for the community and for the patient, as conversion of MC to CC is the predominant factor in prolonging hospitalization (13,14,15).

The preoperative classification of risks allows the surgeon to exclude the patients with a high conversion risk and, at the same time, to inform and advise the patient about the risk of MC conversion to CC, with all its drawbacks: longer hospitalization, longer postoperative recovery and, implicitly, greater costs. Although mini cholecystectomy is more patient-friendly, the patient has to be informed about the potential conversion risk and about the risk factors (16, 17,18,19,20).

Previous studies (8,9,10) analyzed the characteristics of ultrasound that can predict conversion, focusing mainly on laparoscopic cholecystectomy.

In Fried's prospective study, of a total of 1676 laparoscopic cholecystectomies (LC), uni- and multi-varied tests indicated that one of the predictive factors for a high conversion risk was the thickness of the gall bladder wall >3 mm (10). The shortcoming of this study was the lack of quantification by ultrasound of other factors that might predict LC conversion to CC.

In Jorgensen's study, the predictive factor for conversion was considered to be the contracted gall bladder, while it was pointed out that the thickness of the gallbladder wall does not affect the final result (9). This approach must have been somewhat altered by a type-2 error, caused by the size of the study group.

Compared to previous studies, the present study makes possible the identification of a high-conversion-risk subgroup through ultrasound. Preoperative ultrasound should, thus, be considered not just a diagnostic method, but also a preoperative predictive factor in MC.

CONCLUSIONS

The study aimed at showing that ultrasonography can be used both in ranking preoperative risk and as an explorative tool in MC. The risk factors that should be considered as predicting MC conversion to CC are as follows:

- age >70;
- diameter of calculus >20 mm;
- diameter of biliary duct >6 mm;
- contracted gall bladder;
- distance between tegument and gall bladder fundus >7.2 cm;
- distance between tegument and cystic duct >17.1cm.

Being a procedure that can be carried out on an outpatient basis and with rather low costs, ultrasound plays a very important role in the preoperative prediction of converting MC to CC.

REFERENCES

1. Duca S. *Chirurgia laparoscopică.* Cluj Napoca: Ed. Dacia, 1997.
2. Soper NJ, Stockmann PT, Dunnegan DL, Ashley SW. Laparoscopic cholecystectomy: The new 'gold standard'? *Arch Surg* 1992; 127: 917-921.
3. O'Kelly TJ, Barr H, Malley WR, Kettlewell M. Cholecystectomy through a 5-cm subcostal incision. *Br J Surg* 1991; 78: 762-767.
4. Baird DR, Wilson LP, Mason EM. An early review of 800 laparoscopic cholecystectomies at a university-affiliated community teaching hospital. *Am Surg* 1992; 58: 206-210.
5. Peters JH, Ellison EC, Innes JT el al. Safety and efficacy of laparoscopic cholecystectomy: A prospective analysis of 100 initial patients. *Ann Surg* 1991; 213: 3-12.
6. Russel RCG, Cheslyn-Curtis S. New trends in gallstone management. *Br J Surg* 1991; 78: 143-149.
7. Shea JA, HeaJey MJ, Berlin JA et al. Mortality and complications associated with laparoscopic cholecystectomy. A meta-analysis. *Ann Surg* 1996; 224: 609-620.
8. Frazee RC, Roberts MD, Symmonds R et al. What are contraindications for laparoscopic cholecystectomy. *Am J Surg* 1992; 164 (5): 491-494.
9. Jorgensen JO, Hunt DR. Laparoscopic cholecystectomy: a prospective analysis of the potential causes of failure. *Surg Laparosc Endosc* 1993; 3 (1): 49-53.
10. Fried GM, Barkun JS, Sigmun HH et al. Factors determining conversion to laparatomy in patients undergoing laparoscopic cholecystectomy. *Am J Surg* 1994; 167 (1): 35-39.
11. Deziel O, Millikan KW, Economow SG, Doolas A, Ko ST, Airan MC. Complications of laparoscopic cholecystectomy: A national survey of 4292 hospitals and an analysis of 77,604 cases. *Am Surg* 1993; 165: 9-14.
12. Kleinbaum DG. *Logistic Regression : A Self-Learning Text.* New-York: Springer-Verlag, 1994.
13. Dubois F, Berthelot B. Cholecystectomie par mini-laparotomie. *Nouv Presse Med* 1982; 11: 1139-1141.
14. Tyagi NS, Meredith MC, Lumb JC et al. A new minimally invasive technique for cholecystectomy. *Ann Surg* 1994; 220: 617-625.
15. Goco R, Chambers LG. Dollars and cents: Minicholecystectomy and early discharge. *South Med J* 1988; 81: 161-163.
16. Rozsos II, Jako GI, Minimally invasive cholecystectomy (Letter). *Ann Surg* 1994; 220: 7.
17. Singh K. Mini-cholecystectomy: Subcostal muscle splitting incision. *Indian J Surg* 1993; 3: 24-28.
18. O'Dwyer PJ, Murphy I, O'Higgins NL. Cholecystectomy through a 5-cm subcostal incision. *Br J Surg* 1990; 77: 1189-1190.
19. Russel RCG, Shanker S. The stabilised ring retractor: A technique for cholecystectomy. *Br J Surg* 1987; 74: 826-832.
20. Reddick EJ, Oslen DO. Laparoscopic laser cholecystectomy: A comparison with minilap cholecystectomy. *Surg Endosc* 1989; 3: 131-133.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

CHIRURGIE **ARTICOLE ORIGINALE**

STUDIU CLINIC PRIVIND INTEGRAREA GREFELOR SINUSALE ŞI A IMPLANTURILOR ÎN REGIUNEA MAXILARĂ POSTERIOARĂ

F. Onişor-Gligor[1], Al. Rotaru[2], M. Juncar[1], S. Bran[2]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "I. Haţieganu" Cluj-Napoca
Facultatea de Medicină Dentară
1. Catedra de Chirurgie Orală şi Maxilo-Facială I
2. Catedra de Chirurgie Cranio-Maxilofacială - Centrul de Diformităţi Cranio-Faciale

CLINICAL STUDY OF SINUS GRAFTS AND IMPLANTS INTEGRATION, IN THE POSTERIOR MAXILLA (Abstract): In this study we have tried to evaluate the degree of integration for endosinusal grafting and implant placement in the posterior maxilla. **Material and method**: We included in our study a number of 136 patients with sinus lift surgery. We have established the stability of the implants using the periotest. **Results**: The presence of the antral septum favoured the sinus membrane to tear, the results of our study are obvious (23.46%). Aloplastic materials for sinus grafting is our first choice because the results are comparable with the cases in wich we used autografts, and the advantage is that we don't need a second surgery place. Implant insertion after sinus grafting integration, increases the rate of succes in sinus grafting and implant insertion compared with sinus grafting and implant insertion made in the same operative step. **Key words**: SINUS GRAFT, ANTRAL SEPTA, SINUS LIFTING

Atrofia crestei alveolare edentate din regiunea posterioară a maxilei reprezintă un impediment pentru inserarea implanturilor endoosoase la acest nivel. Dificultăţile care apar în astfel de situaţii ţin în cea mai mare parte de stabilitatea pe care implanturile din această regiune o prezintă şi de afectarea sinusului maxilar.

Pe parcursul anilor s-au dezvoltat o serie de proceduri de elevare a podelei sinusale, prin abordarea acesteia pe cale externă sau pe cale internă. Tehnica o-peratorie a intrat în rutina pregătirii pacienţilor în vedere inserării implanturilor dentare endoosoase. Cu toate acestea sunt prezente o serie de neajunsuri legate de păstrarea integrităţii membranei sinusale şi de posibilitatea de rezolvare a eventualelor accidente care pot să apară intraoperator. Lezarea mucoasei sinusale apare cel mai frecvent datorită particularităţilor anatomice de la nivelul sinusului maxilar, consecutivă unor procese patologice care au afectat sinusul maxilar sau ca urmare a unei tehnici operatorii deficitare (1).

Deşi perforarea membranei sinusale reprezintă o cauză de îngrijorare cu privire la posibila evoluţie postoperatorie pe care pacienţi o pot prezenta, datele din literatura de specialtate sunt contradictorii în ceea ce priveşte importanţa pe care perforarea mucoasei sinusale o prezintă.

Aprecierea evoluţiei post-operatorii a grefelor introduse la nivelul sinusului maxilar prezintă o importanţă majoră pentru indicarea sau nu a utilizării implanturilor dentare.

Prin lucrarea de faţă dorim să facem o evaluare amănunţită a gradului de integrare a grefelor endosinusale. Pentru aceasta am luat în studiu mai mulţi factori ce ţin atât de tehnica utilizată cât şi de accidentele intraoperatorii care pot să apară.

Scopul final al cercetării este de a aprecia gradul de stabilitate a implanturilor endoosoase la pacienţii incluşi în studiul nostru, corelat cu perforarea sau nu a mucoasei sinusale.

MATERIAL ŞI METODĂ

Pentru evaluarea datelor am luat în calcul pacienţii cu edentaţii în regiunea maxilarului superior pe care i-am tratat pe o perioadă de trei ani.

Am inclus în studiu acei pacienţi care au prezentat un grad de atofie osoasă mai mic sau egal cu 12 mm şi care au dorit protezarea edentaţiilor din zona de sprijin maxilară prin utilizarea implanturilor endoosoase.

La toţi pacienţii pe care i-am inclus în studiu, în număr de 136, s-a practicat sinus lifting fie pe cale externă fie pe cale internă. Am exclus din studiu pacienţii care au prezentat modificări de troficitate sau aspect a mucoasei sinusale, ca urmare a unor procese patologice preexistente la nivelul sinusului maxilar, în aceste cazuri renunţând la planul terapeutic de protezare prin implanturi dentare.

Ulterior am selectat cazurile în care am recurs la elevarea podelei sinusale pe cale externă, în număr de 102, şi am împărţit pacienţii în două loturi în funcţie de prezenţa sau nu a perforaţiilor accidentale la nivelul mucoasei sinusale.

O a doua împărţire a cazurilor am realizat-o în funcţie de materialul din care a fost realizată grefa endosinusală. Astfel la cazurile la care nu s-a perforat mucoasa sinusală în total de 76, am aplicat grefă din material aloplastic la majoritatea (62) şi autogrefă la 14 cazuri. Am urmărit evoluţia postoperatorie comparativă între cele două eşantioane în funcţie de tipul de material utilizat.

Gradul de stabilitate a implanturilor dentare l-am evaluat cu ajutorul aparatului Periotest Medizintechnik Gulden. Scala de valori a acestuia din urmă este încadrată între -8 şi +50. Dacă valorile sunt cuprinse între -8 şi 0, implanturile sunt osteointegrate şi pot fi protezate,dacă valorile se situează între +1 şi +9 se recomandă o atitudine de expec-tativă, iar în cazul în care valoarea depăşeşte +10, implantul nu se poate proteza.

Pentru alcătuirea tabelelor de contingenţă am utilizat programul Microsoft Excel iar pentru validarea statistică a datelor am utilizat Testul Student.

REZULTATE

La majoritatea pacienţilor pe care i-am inclus în studiul nostru am practicat sinus lifting extern 75%. Sinus liftingul intern l-am practicat doar în cazul în care am introdus un singur implant dentar, iar gradul de atrofie osoasă se încadra după clasificarea Misch în SA II, 25%.

Din totalul acestor cazuri am acordat o atenţie deosebită acelor pacienţi la care am efectuat sinus lift pe cale externă. Astfel la aproximativ un sfert dintre aceştia (25,49%) s-a perforat membrana sinusală în timpul intervenţiei chirurgicale.

Acest accident a apărut în ma-joritatea cazurilor la acei pacienţi la care sinusul maxilar a prezentat septuri osoase (fig. 1), practic prezenţa septului endosinusal s-a corelat cu perforarea mucoasei sinusale (p = 0,041).

În cazul în care s-a perforat mucoasa sinusală s-a recurs la plastia defectului prin utilizarea unor membrane de colagen aplicate deasupra grefei endosinusale. În acest mod am obţinut izolarea grefei osoase faţă de cavitatea sinusală.

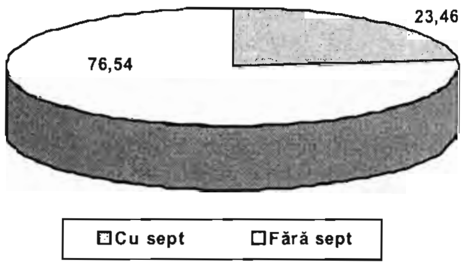


Fig. 1. Prevalenţa prezenţei septului endosinusal în cadrul lotului studiat

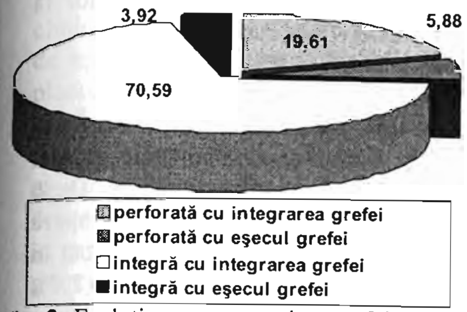


Fig. 2. Evoluţia postoperatorie a grefelor endosinusale în funcţie de integritatea mucoasei sinusale şi utilizarea membranelor de colagen din totalul pacienţilor la care s-a efectuat sinus lifting extern

La pacienţii la care nu s-a perforat mucoasa sinusală am aplicat două tipuri de grefă la nivelul podelei sinusale. În cazul a 62 dintre aceştia am aplicat perioglas iar la restul de 14 cazuri am recoltat autogrefă pe care am amplasat-o pe podeaua sinusului maxilar. Din cele 14 cazuri de autogrefa 5 au fost recoltate de la nivelul crestei iliace, 8 de la nivelul ramului ascendent mandibular şi una de la nivelul simfizei mentoniere.

Raportând evoluţia grefelor endosinusale la utilizarea sau nu a membranelor de colagen, am observat o rată mai mare a eşecului la pacienţii la care am utilizat membrane de colagen pentru repararea defectelor apărute la nivelul mucoasei sinusale (fig. 2). Menţionăm faptul că s-a recurs la plastia perforaţiei numai în cazurile în care aceasta era de mici dimensiuni, în celelalte cazuri renunţându-se la efectuarea elevării podelei sinusale.

Am urmărit evoluţia posto-peratorie a pacienţilor la care am aplicat grefă din material aloplastic şi a celor cu autogrefă şi am observat o evoluţie mai bună a cazurilor cu material aloplast. Totuşi numărul redus de cazuri la care am aplicat autogrefă (14), nu permite efectuarea unor studii exhaustive. Datele procentuale se referă la numărul total al pacienţilor la care nu am perforat mucoasa sinusală şi implicit la care nu am aplicat membrană de colagen (fig. 3).

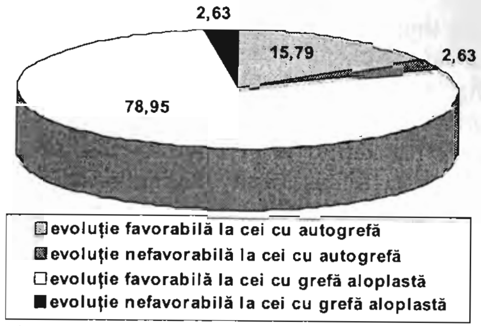


Fig. 3. Evoluţia comparată a grefelor endosinusale în funcţie de tipul de grefă utilizat la pacienţii la care nu s-a perforat mucoasa sinusală

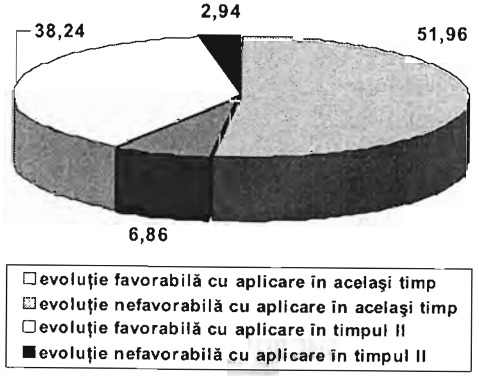


Fig. 4. Evoluţia grefelor endosinusale în funcţie de timpul în care s-au aplicat implanturile endoosoase, din totalul pacienţilor la care s-a efectuat sinus lifting extern

La 57,84% din pacienţii pe care i-am inclus în acest studiu am aplicat implanturile în aceeaşi şedinţă în care am făcut elevarea podelei sinusale. Am recurs la aplicarea implanturilor la 6 luni de la elevarea podelei sinusale în cazul pacienţior care prezentau o atrofie marcată osoasă, aceştia fiind incluşi în clasa a IV-a conform clasificării lui Misch.

Nu am observat o diferenţă considerabilă în evoluţia post-operatorie între pacienţii la care am aplicat implanturile în acelaşi timp cu grefa endosinusală, faţă de cei la care implantul a fost aplicat în timpul II (fig. 4). Cu toate acestea am observat o uşoară tendinţă spre o evoluţie mai favorabilă a pacienţilor la care am aplicat implanturile la 6 luni după elevarea podelei sinusale (p= 0,032).

Am apreciat gradul de stabilitate, a implanturilor după in-serarea lor endoosoasă, cu ajutorul periotestului. Valorile au fost deter-minate intraoperator în prima etapă atât pentru implanturile inserate în acelaşi timp cu grefa endosinusală, cât şi pentru implanturile inserate la 6 luni după sinus lifting. Implanturile inserate în timpul 2 au avut o stabilitate mai bună (media valorilor periotestelor fiind -3,90), decât cele inserate în acelaşi timp cu aug-mentarea podelei sinusale (media periotestelor -2,85).

La 6 luni postoperator, în momentul descoperirii implanturilor, s-au repetat periotestele, valorile fiind şi de această dată mai bune pentru implanturile inserate în timpul 2, diferenţa fiind chiar mai mare, media valorilor periotestelor -4,80 fiind faţă de -2,75.

La lotul de 76 de pacienţi selectaţi, la care nu s-a perforat mucoasa sinusală şi s-a efectuat elevarea podelei sinusale, s-au inserat 248 de implanturi. Cu ajutorul periotestului s-a obsevat că 86,27% din implanturi s-au integrat, iar la 4,90% din implanturi s-a amânat protezarea, valorile fiind între +1 şi +9 (fig. 5). Implanturile la care s-a adoptat atitudinea de expectativă nu au fost protezate, ele fiind trecute ulterior la eşecuri.

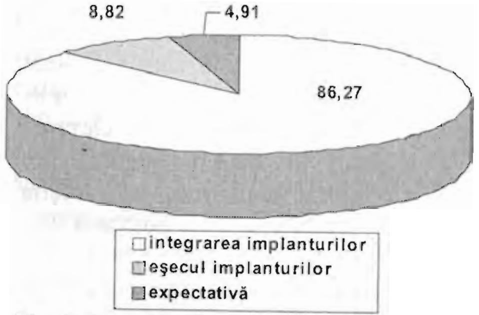


Fig. 5. Gradul de integrare a implanturilor aplicate la 6 luni după augmentare

DISCUŢII

Perforarea membranei sinusale reprezintă cea mai frecventă complicaţie apărută în timpul elevării podelei sinusale. După Vlassis perforare membranei sinusale apare mai frecvent în timpul osteotomiei decât în timpul elevării membranei sinusale (2,3). În studiile publicate de Pikos şi Stricker, perforarea membranei sinusale apare între 10-35%, noi am găsit un procent de 25,49%, corelat cu prezenţa septului antral (23,4%). Din procentul de 25,49%, la 5,88% s-a constatat eşecul grefei aplicate pentru elevarea podelei sinusale (4,5). Proussaefs a găsit o rată de eşec în integrarea grefei de 69,5%, în situaţia în care s-a perforat membrana sinusală (6). În schimb, Ardekian şi Karabuda nu au relevat vreo diferenţă în integrarea grefelor, dacă s-a perforat membrana sinusală (7,8).

Pentru a se putea evalua gradul de integrare a grefelor autologe în comparaţie cu grefele din perioglas, am reţinut pentru această comparaţie doar pacienţii la care nu s-a perforat membrana sinusală. La doar 18% din cazuri s-a efectuat elevarea podelei sinusale cu grefă autologă, pacienţii fiind reticenţi la o intervenţie suplimentară pentru a se recolta grefa. Rezultatele obţinute de noi au relevat un grad de integrare al grefelor cu perioglas mai mare decât cele din material autolog. Este interesant de notat faptul conform căruia grefele care au utilizat numai os autolog au o rată a succesului mai mică decat grefele care au utilizat materiale sintetice. Într-un studiu similar publicat în literatura de specialitate, grefele endosinusale autologe au fost comparate cu grefele de os liofilizat (DFDB), rezultatele fiind în favoarea autogrefelor (1).

Deşi din dorinţa de a scurta timpul de tratament, implanturile s-au inserat în primul timp operator la cazurile în care situaţia clinică permitea acest lucru (57,84%), rata de eşec a fost mai mică (2,96%) dacă implanturile s-au inserat după maturarea grefei. În studiul nostru, media valorilor periotestelor efectuate au relevat o implantare mai bună atât imediat postoperator cât şi la descoperirea implanturilor, pentru cazurile în care implanturile s-au inserat după integrarea grefei.

Într-un studiu retrospectiv efectuat pe 318 pacienţi, nu s-au găsit diferenţe semnificative între implanturile inserate în regiunea maxilară posterioară, cu sau fără elevarea podelei sinusale, reuşita a fost consemnată în 88% din cazuri (1). În studiul nostru reuşita a fost consemnată în 82% din cazuri.

CONCLUZII

Prezenţa septului antral favo-rizează perforaţia membranei sinusale, corelaţia găsită în studiul nostru fiind evidentă. Perforarea membranei sinusale, nu prezintă un impediment pentru continuarea procedurii de elevare a podelei sinusale, atunci când perforaţia este de mici dimensiuni. Utilizarea membranelor de colagen rezorbabile, ajută la integrarea grefelor endo-sinusale.

Utilizarea materialelor aloplaste ca materiale de adiţie subantrală, reprezintă o bună alegere deoarece rezultatele obţinute de noi, în comparaţie cu grefele autologe sunt comparabile şi se evită abordarea unui nou câmp operator pentru prelevarea grefei. Perioglas-ul reprezintă un bun material pentru refacerea dimensiunii subantrale în vederea implantării ulterioare.

Inserarea implanturilor după integrarea grefei duce la creşterea ratei de succes a grefelor subantrale şi a implanturilor inserate ulterior. Dezavantajul este reprezentat de prelungirea timpului de tratament.

BIBLIOGRAFIE

1. Misch CE. The maxilary sinus and sinus graft surgery. In: Misch CE. *Contemporany Implant Dentistry*. St Louis: Mosby, 1999, 469-495.
2. Vlassis JM, Fugazzotto PA. A classification system for sinus membrane perforations during augumentation procedures with option for repair. *J Periodontol* 1999; 70: 692-699.
3. Fugazzotto PA, Vlassis J. A simplified classification and repair system for sinus membrane perforations. *J Periodontol* 2003; 74: 1534-1541.
4. Pikos MA. Maxillary sinus membrane repair: report of technique for large perforations. *Implant Dent* 1999; 8: 29-34.
5. Stricker A, Voss PJ, Gutwald R, Schramm A, Schmelzeisen R. Maxillary sinus floor augmention with autogenous bone graft to enable placement of SLA-surfaced implants: preliminary results after 15-40 months. *Clin Oral Implants Res* 2003; 14: 207-212.
6. Proussaefs P, Lozada J, Kim J. Effects of sealing the perforated sinus membrane with a resorbable collagen membrane: a pilot study in humans. *J Oral Imlantol* 2003; 29: 235-241.
7. Ardekian L, Oved-Peleg E, Mactei EE, Peled M. The clinical significances of sinus membrane perforation during augmentation of the maxillary sinus. *J Oral Maxillofac Surg* 2006; 64: 277-282.
8. Karabuda C, Arisan V, Hakan O. Effects of sinus membrane perforations on the success of dental implants placed in the augmented sinus. *J Periodontol* 2006; 77: 1991-1997.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

MANAGEMENTUL ANXIETĂŢII ASOCIATE TERAPIEI ÎN CHIRURGIA DENTO-ALVEOLARĂ

C. Oros[1,2], Maria Voroneanu[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină Dentară
1. Departamentul de Chirurgie orală şi maxilo-facială
2. Cabinet Medical Individual Bacău

MANAGEMENT OF THE ANXIETY ASSOCIATED WITH ORAL SURGERY (Abstract): General and practical training, knowing of safe methods of preanesthesia, pain and anxiety control and establishing a good relation with the patient are some of the most important methods of patient management in the dental office. The final goals of the methods are to obtain a calm patient, haemodinamic equilibrated and safely prepared for the surgery. **Material and method**: Our study was performed on 448 patients. Different methods of preanesthesia were used by administrating per oral, intravenous, intramuscular, according with DAS score: Midazolam, Diazepam + Algocalmin, Xanax. **Results**: 58% of our patients declared after surgery that their satisfaction score is 100% positive after one of our methods of preanesthesia. **Conclusion**: When choosing the appropiate premedication, the ability of the analgesic and anxiolytic drug to improve pain tolerance should be one of the most important criteria. Doses must be correlated with the anxiety score DAS, road use and the probable duration of surgery.

Key words: PAIN, ANXIETY CONTROL, PREANESTHETIC DRUGS

Pacientul se teme în primul rând de durere, durerea fiind o experienţă pe care fiecare om o trăieşte mai mult sau mai puţin frecvent, cu mai mare sau mai mică intensitate. Este normal deci ca pacientul să fie preocupat de metoda, tehnica şi calitatea anesteziei şi a actului chirurgical, de posibilitatea unor deficienţe în instalarea sau durata anesteziei care ar putea să cauzeze durere în timpul intervenţiei sau în perioada imediat următoare. Relaţia medic-pacient din punct de vedere psihologic este mai "rece" în ultimul deceniu şi se pare că nu i se acordă atenţia cuvenită, preocuparea medicului fiind în principal axată pe suferinţa organică a pacientului (1,2). În stomatologie, percepţia durerii la pacienţi este în strânsă concordanţă cu starea lor psihică. O terapie solitară nu este suficientă 100% în practica dentară, ci doar combinarea a mai multor factori are un efect cumulativ pozitiv: pregătirea psihică, sedarea farmaco-terapeutică şi anestezia loco-regională (3,4).

Scopul principal al cercetării noastre a fost ca în corelaţie cu Scorul Anxietăţii Dentare (DAS) să investigăm valoarea metodelor alternative, proprii de combatere a anxietăţii particularizată pe: instalarea anxiolizei, normalizarea manifestărilor neuro-vegetative, identificarea pragului durerii prin exteriorizarea acesteia.

MATERIAL ŞI METODĂ

Prima etapă a cercetării a urmărit administrarea unor metode proprii de preanestezie individualizate pe valorile obţinute, la nivelul lotului studiat, ale Scorului Anxietăţii Dentare (DAS). Raţionamentul nostru de a găsi metode alternative de prevenire şi combatere a durerii în chirurgia orală de ambulator urmăreşte ca un prim obiectiv farmaco-terapeutic scăderea nivelului de anxietate a pacientului pentru ca în acest fel să putem controla trăirea durerii şi, în consecinţă, liniştirea răspunsului vaso-vagal.

Pentru atingerea acestui obiectiv am utilizat droguri cu acţiune anxiolitică, sedativă, uşor hipnotică şi miorelaxantă, preferinţa noastră fiind reprezentată de preparate din grupa benzodiazepinelor: Diazepam, Alprazolam şi Midazolam (Dormicum).

Studiul a cuprins 448 de pacienţi selectaţi în raport cu scorul DAS structuraţi în subloturi în raport cu metoda de premedicaţie folosită. Metodele alternative farmaco-terapeutice pe care le-am efectuat la pacienţii din loturile studiate de noi le-am conceput în funcţie de nivelul de anxietate identificat.

Astfel la sublotul cu DAS-1, 66 pacienţi, la care pacienţii sunt calmi, liniştiţi şi cooperanţi, cu un prag al sensibilităţii dureroase ridicat, am considerat că nu este necesară premedicaţia.

La sublotul cu DAS-2, 124 pacienţi, neliniştiţi, uşor anxioşi, cu o toleranţă la durere acceptabilă, am administrat premedicaţie orală. Agenţii farmacologici folosiţi au fost: Diazepam, Alprazolam (Xanax), Midazolam (Dormicum), Pentazocină (Fortral).

La sublotul cu DAS-3, 124 pacienţi, tensionaţi, moderat anxioşi, cu o toleranţă redusă la durere, le-am administrat premedicaţie pe cale intramusculară. Agenţii farmacologici folosiţi au fost: Diazepam, Diazepam + Algocalmin, Midazolam (Dormicum), Pethidină (Mialgin).

La sublotul cu DAS-4, 124 pacienţi, impresionabili, puternic anxioşi, am administrat premedicaţie pe cale intravenoasă. Agenţii farmacologici folosiţi au fost: Diazepam + Algocalmin, Midazolam (Dormicum)

Benzodiazepinele, administrate pe cale orală în majoritatea cazurilor, au demonstrat efecte anxiolitice, sedative şi miorelaxante, dar administrate pe cale intramusculară sau intravenoasă pe lângă aceste proprietăţi au demonstrate şi efectele hipnotice.

A doua etapă a cercetării a urmărit aprecierea valorii administrării metodelor proprii de preanestezie individualizate pe valorile obţinuteale Scorului Anxietăţii Dentare (DAS) cu ajutorul a trei scoruri proprii: GRADUL DE SATISFACŢIE, SCORUL DE RISC CARDIO-VASCULAR, SCORUL DURERII.

REZULTAE ŞI DISCUŢII

În încercarea noastră de a fi cât mai realişti în formularea concluziilor, am realizat studii statistice comparative între metodele de preanestezie implementate de noi particularizate pe nivelul de satisfacţie al pacientului. În acest context am urmărit stabilirea unor corelaţii specifice, informatizate, încrucişate între următorii itemi: scorul DAS - medicaţia preanestezică - calea de administrare - gradul de satisfacţie al pacientului. Din interogatoriul post-operator în raport cu declaraţiile pacienţilor noştri am observat următoarele:

- unii pacienţi au declarat că au suportat foarte bine intervenţia chirurgicală = grad de satisfacţie 100%
- unii pacienţi au declarat că au conştientizat orice eveniment intraoperator dar acest aspect nu i-a tulburat, în final trecând bine peste actul operator = grad de satisfacţie 50%
- unii pacienţi au declarat că au conştientizat orice eveniment intraoperator, aspect care i-a tulburat, dar intervenţia s-a finalizat fără evenimente neprevăzute, în final trecând bine peste actul operator = grad de satisfacţie 25%
- în final unii pacienţi au declarat că au conştientizat orice eveniment intraoperator, aspect care i-a tulburat profund, percepţia durerii nu a fost deloc modificată iar colaborarea cu medicul specialist a fost îngreu-

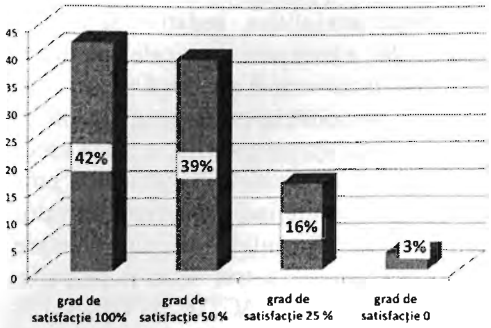


Fig. 1. Repartiţia pacienţilor cu premedicaţie orală după gradul de satisfacţie declarat postoperator

nată, impunându-se chiar completarea anesteziei şi în unele cazuri pacientul declanşând un eveniment cardio-vascular neprevăzut = grad de satisfacţie 0%

DAS–2 - 124 pacienţi - PREMEDICAŢIA ORALĂ

Gradul de satisfacţie declarat postoperator de pacienţii noştri este prezentat în fig. 1. În continuarea cercetărilor noastre ni s-a părut interesant să detectăm care agent farmaceutic preanestezic folosit ca premedicaţie orală în studiul nostru induce cel mai eficient grad de satisfacţie al pacientului (fig. 2).

DAS-3 - 124 pacienţi - PREMEDICAŢIA INTRAMUSCULARĂ

Gradul de satisfacţie declarat postoperator de pacienţii noştri este prezentat în fig. 3. De aceea a fost util să detectăm care agent farmaceutic preanestezic folosit ca premedicaţie intramusculară în studiul nostru induce cel mai eficient grad de satisfacţie al pacientului (fig. 4).

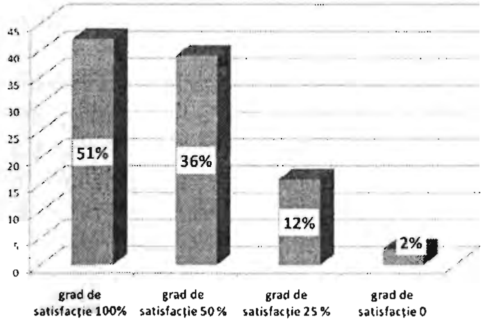


Fig. 3. Repartiţia pacienţilor cu premedicaţie intramusculară după gradul de satisfacţie declarat postoperator

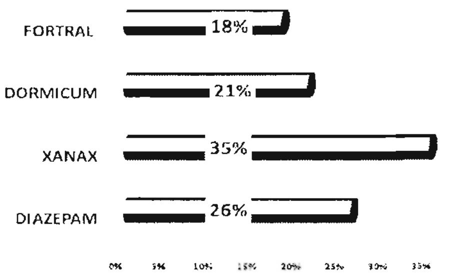


Fig. 2. Ierarhia gradelor de satisfacţie în raport cu agentul preanestezic administrat peros

DAS-4 - 124 pacienţi - PREMEDICAŢIA INTRAVENOASĂ

Gradul de satisfacţie declarat postoperator de pacienţii noştri este prezentat în fig. 5. În consecinţă am încercat să stabilim ce agent farmaceutic preanestezic folosit ca premedicaţie intravenoasă în studiul nostru induce cel mai eficient grad de satisfacţie al pacientului (fig. 6).

Analizele statistice informatizate aplicate la nivelul pacienţilor care au declarat un grad de satisfacţie 0% ne-au relevat două cauze majore :

- 63% absenţa medicaţiei preanestezice
- 37% neadaptarea medicaţiei preanestezice, precum şi a căii de administrare, la Scorul anxietăţii DAS

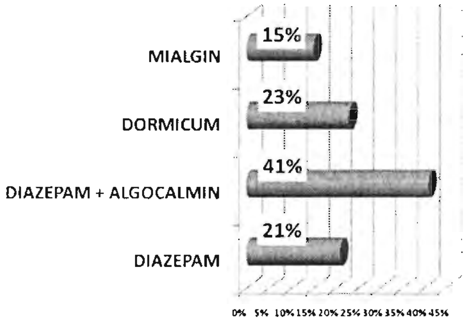


Fig. 4. Ierarhia gradelor de satisfacţie în raport cu agentul preanestezic administrat intramuscular

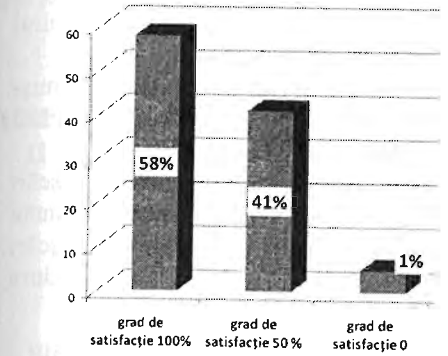


Fig. 5. Repartiţia pacienţilor cu premedicaţie intravenoasă după gradul de satisfacţie declarat postoperator

Protocolul de cercetare a urmărit în continuare intervenţiile chirurgicale :

- acompaniate sau nu de monitorizarea parametrilor cardio-vasculari ai pacientului - înregistrarea SCORULUI DE RISC CARDIO-VASCULAR
- acompaniate sau nu de înregistrarea SCORULUI DURERII ca indice de apreciere a calităţii schemelor de preanestezie implementate

Monitorizarea parametrilor cardio-vasculari ai pacientului : tensiune, puls, monitorizare EKG în prezenţa sau absenţa schemelor de preanestezie a urmărit înregistrarea SCORULUI DE RISC CARDIO-VASCULAR în scopul evaluării modului în care acesta poate aprecia dacă medicaţia preanestezică s-a demonstrat eficientă în păstrarea nealterată sau nu a constantelor cardio-vasculare pe durata intervenţiei.

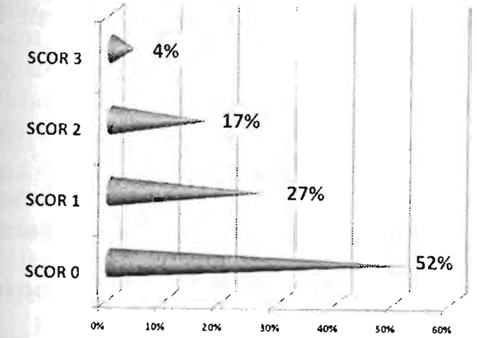


Fig. 7. Variaţia Scorului Durerii modulată de premedicaţia orală

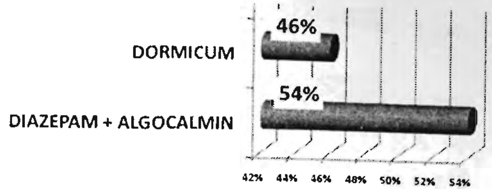


Fig. 6. Ierarhia gradelor de satisfacţie în raport cu agentul preanestezic administrat intravenos

Scor 0 – păstrarea în limite normale a constantelor cardio-vasculare

Scor 1 – o uşoară modificare constantelor cardio-vasculare, dar cu păstrarea în limite normale

Scor 2 – modificarea constantelor cardio-vasculare în sensul creşterii valorilor acestora

Scor 3 – încadrarea valorilor constantelor cardio-vasculare în clasa de risc al instalării unei urgenţe medicale.

Deducţiile statistice încrucişate între itemii studiaţi ne-au condus la următoarele rezultate ale cercetărilor noastre :

- Medicaţia preanestezică administrată oral : Scor 0 – 46% dintre pacienţi (fig. 7).
- Medicaţia preanestezică administrată intramuscular : Scor 0 – 52% dintre pacienţi (fig. 8).
- Medicaţia preanestezică administrată intravenos : Scor 0 – 72% dintre pacienţi (fig. 9).

În scopul evaluării modului în care medicaţia preanestezică reuşeşte să moduleze recepţionarea de către pacient a manevrelor considerate ca fiind dureroase am pus la

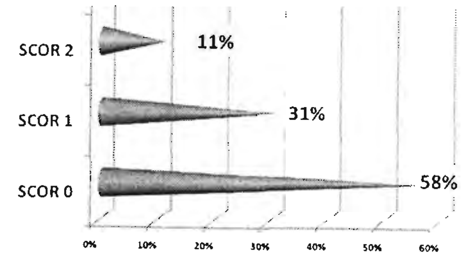


Fig. 8. Variaţia Scorului Durerii modulată de premedicaţia intramusculară

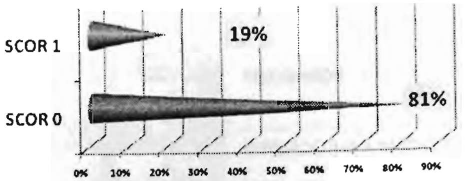


Fig. 9. Variaţia Scorului Durerii modulată de premedicaţia intravenoasă

punct un sistem de apreciere a gradului durerii la momentul operator. Acest sistem s-a bazat pe observarea independentă a gradului de percepţie a durerii particularizată pe următorul indice de evaluare verbal:

Scor 0 - toleranţă 100% a durerii - pacientul nu transmite verbal nici o acuză vizavi de percepeţia durerii

Scor 1 - toleranţă 75% a durerii - unele acuze minore, dar care nu indică durere sau discomfort

Scor 2 - toleranţă 50% a durerii - unele acuze minore care indică o uşoară percepţie a durerii sau uşor discomfort

Scor 3 - toleranţă 0% a durerii - acuze majore sau minore dar frecvente vizavi de percepţia gesturilor dureroase

- Medicaţia preanestezică administrată oral: Scor 0 - 52% dintre pacienţi.
- Medicaţia preanestezică administrată intramuscular: Scor 0 - 58% dintre pacienţi.
- Medicaţia preanestezică administrată intravenos: Scor 0 - 81% dintre pacienţi.

Sistemul nostru de apreciere ar fi putut apela şi la indicii de apreciere non-verbali, dar am considerat comunicarea cu pacientul ca cea care ne poate da cele mai exacte aprecieri. Exemplu de evaluare non- verbală:

Scor 0 - toleranţă 100% a durerii - pacientul nu-şi schimbă poziţia în fotoliul stomatologic

Scor 1 - toleranţă 75% a durerii - mişcări uşoare, dar pacientul nu-şi schimbă poziţia în fotoliul stomatologic

Scor 2 - toleranţă 50% a durerii - mişcări uşoare care necesită repoziţionarea pacientului

Scor 3 - toleranţă 0% a durerii - mişcări ample, bruşte care inteferă cu procedura chirurgicală.

CONCLUZII

Scopul premedicaţiei trebuie să fie necondiţionat determinat de efectul anxiolitic şi de cel analgezic pentru îmbunătăţirea toleranţei la durere. Dozele medicaţiei administrate trebuie să fie corelate cu nivelul scorului anxietăţii DAS, calea de utilizare, durata probabilă a intervenţiei chirurgicale programate.

Premedicaţia administrată intravenos (cu o medie informatică 58%) este metoda preanestezică care s-a demonstrat cea mai eficientă în obţinerea unui grad de satisfacţie al pacientului superior.

Premedicaţia administrată intravenos (cu o medie informatică 56,6%) este metoda preanestezică care s-a demonstrat cea mai eficientă în păstrarea în limite normale a parametrilor cardio-vasculari.

Premedicaţia administrată intravenos (cu o medie informatică 64,66%) este metoda preanestezică care s-a demonstrat cea mai eficientă în păstrarea în limite normale a scorului durerii.

BIBLIOGRAFIE

1. Anderson RT. *The Puzzle of Pain.* 2nd ed. London, New York: Gordon & Breach, Arts International, 2004.
2. Brad R, Băncila R, Lazarescu F. Anxietatea în corelaţie cu manevrele de igienizare: rezultatele ultimului studiu realizat în S.U.A. *Rev Med Stom* 2001; 5 (2): 87-90.
3. Chiriţă R, Szalontay AS, Iliescu D. Interrelaţiile dintre tulburările anxioase şi tratamentul stomatologic. *Rev Med Stom* 2001; 5 (1): 276-279.
4. Dionne R, Yagiela J, Moore P. Comparing efficacy and safety of four intravenous sedation regimens in dental outpatients. *J Am Dent Assoc* 2001; 132: 740-751.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

URETEROCEL BILATERAL CU URETEROHIDRONEFROZĂ GRADUL II ŞI LITIAZĂ URETERALĂ PELVINĂ BILATERALĂ SECUNDARĂ

V.D. Radu, B. Bercea
Spitalul "Dr. C.I. Parhon" Iaşi
Clinica de Urologie şi Transplant Renal

BILATERAL URETEROCELES WITH BILATERAL SECONDARY HYDRONEPHROSIS AND PELVIC URETERAL CALCULI. CASE REPORT (Abstract): Bilateral ureteroceles is a rare congenital condition that is usually diagnosed antenatal or in childhood. We present the case of 64 year-old woman which was admitted for incidentally discovered microscopic hematuria. A bilateral ureteroceles and secondary pelvic ureteral calculi were diagnosed by clinical examination (vaginal touch), ultrasound, plain radiography and intravenous urography. A transurethral incision of ureteroceles and extraction of calculi was performed by endoscopic approach. The postoperative recovery period was uneventfull. Considering the risk for development of vesicoureteral reflux or recurrence of obstruction at ureterovesical junction, a close long term follow-up is required. **Key words**: URETEROCELES, BILATERAL HYDRONEPHROSIS, URETERAL PELVIC LITHIASIS, TRANSURETHRAL INCISION

Ureterocelul este o dilataţie chistică congenitală a ureterului terminal (1). Peretele muscular al ureterului intramural se dezvoltă anormal, motiv pentru care acesta capată o formă de balon. Poate fi intravezical sau ectopic (2). Ureterocelul intravezical este în general asociat cu un singur ureter în timp ce cel ectopic implică de obicei şi o duplicitate pielo - ureterală. Ureterocelul, o malformaţie foarte rară a aparatului urinar, apare de 7 ori mai frecvent la femei şi doar în 10% din cazuri este bilateral (3). Cel mai frecvent se diagnostichează la copii sau chiar antenatal. Mai rar se poate diagnostica şi la adulţi.

Tabloul clinic variază considerabil. Principalele simptome sunt date de complicaţiile ureterocelului şi anume: staza ureteropielocaliceală, litiaza (în ureterocel sau renală) şi infecţia secundară primelor două (1,4).

Majoritatea ureterocelelor diagnosticate la adult se pot rezolva prin incizia endoscopică (meatotomie) (3,5,6,7). În cazul în care este complicat de apariţia litiazei, se pot rezolva concomitent atât ureterocelul cât şi calculii, fie endoscopic, fie chirurgical (8).

CAZ CLINIC

Prezentăm cazul unei paciente N.B., de 64 de ani, din mediul rural, complet asimptomatică, care se prezintă la consultul urologic datorită descoperirii unui sumar de urină patologic (hematurie microscopică) în urma bilanţului clinic anual efectuat de medicul de familie.

Antecedentele personale şi heredocolaterale sunt nesemnificative. La examenul digital vaginal se constată o formaţiune dură de aproximativ 1,5 cm ce se poate palpa prin peretele vezical posterior pe partea stângă. Funcţia renală este normală. Ecografic se descrie ureterohidronefroză bilaterală gradul III (clasificarea în 5 grade) iar la nivelul vezicii urinare se constată 3 imagini hiperreflectogene imobile, cu con de

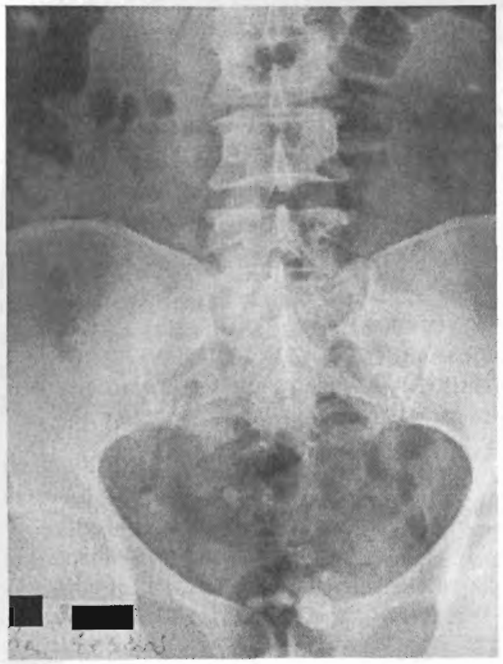

[redacted]
[redacted]

Fig. 1. Radiografie renală simplă

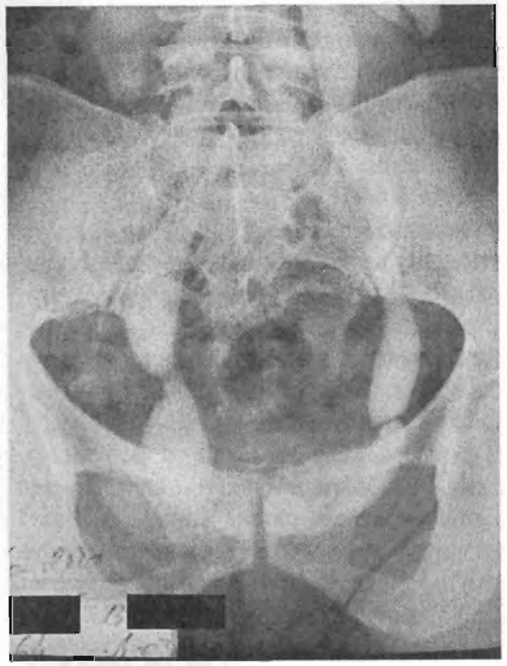

[redacted]
[redacted]

Fig. 3. Aspect urografic (2)

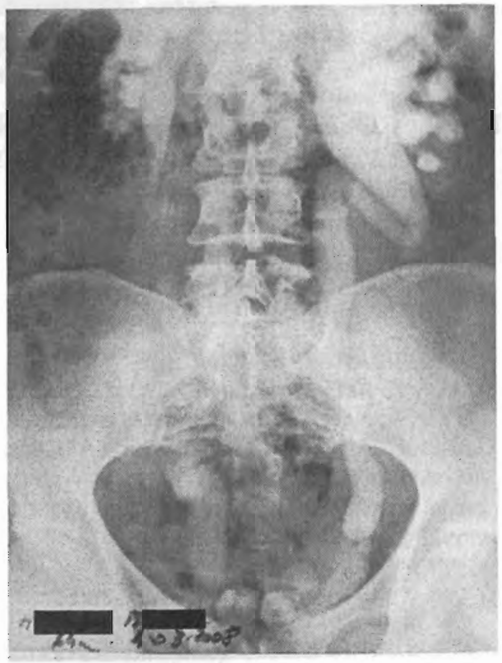

[redacted]
[redacted]

Fig. 2. Aspect urografic (1)

umbră posterior. Radiografia renală simplă descrie 3 imagini de intensitate calcară în micul bazin (2 de 1 cm și una de 2 cm) precum și o imagine de calcul de 7 mm în dreptul vertebrei L3, pe aria renală stângă (fig. 1).

S-a efectuat urografia intravenoasă ce a evidențiat ureterohidronefroză bilaterală gradul III cu dilatarea ureterelor până la joncțiunea ureterovezicală, litiază ureterală pelvină bilaterală și un calcul caliceal inferior stâng (fig. 2, 3). Cistoscopia obiectivează prezența ureterocelului bilateral - dilatația chistică a ureterului pelvin ce proemină în lumenul vezical cu orificiu ureteral punctiform (fig. 4).

Tratamentul a constat în incizia endoscopică a ureterocelului cu extragerea calculilor. S-a folosit trusa de rezecție Storz, cu ansa Collins. După cistoscopie s-a incizat inițial ureterocelul stâng vizualizându-se un calcul de 1,5 cm la nivelul meatului ureteral (fig. 5, 6). Datorită dimensiunilor crescute a calculului, după extragerea acestuia în vezică a fost necesară efectuarea litotriției endoscopice urmată de extragerea fragmentelor.

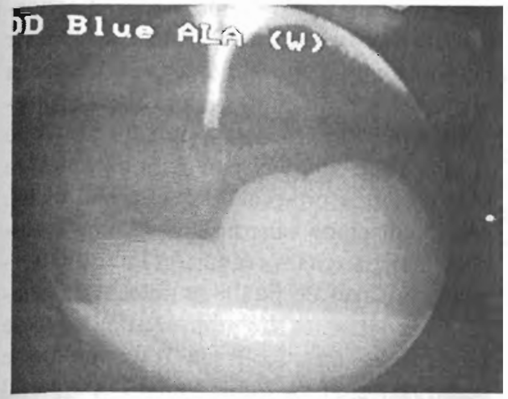


Fig. 4. Cistoscopie - ureterocel

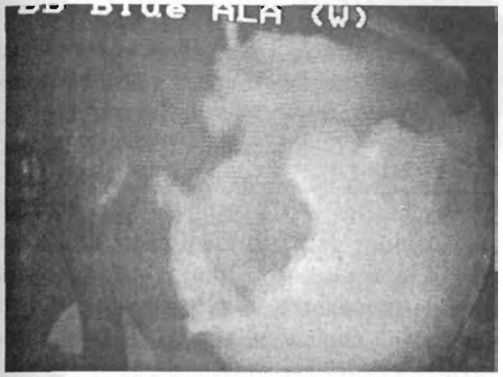


Fig. 6. Orificiu ureteral stâng după extragerea calculului

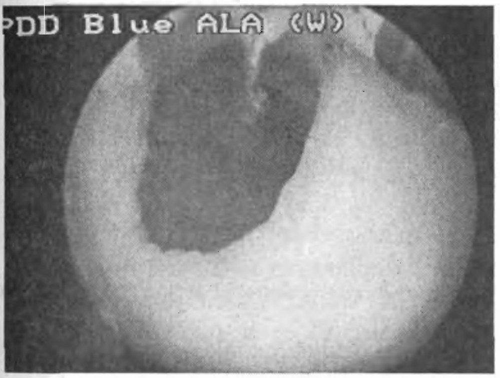


Fig. 8. Ureteroscopie dreaptă retrogradă efectuată cu rezectoscopul

După incizia ureterocelului drept (fig. 7) s-a obiectivat un ureter mult dilatat, iar calculii vizibili pe filmul urografic au migrat ascendent.

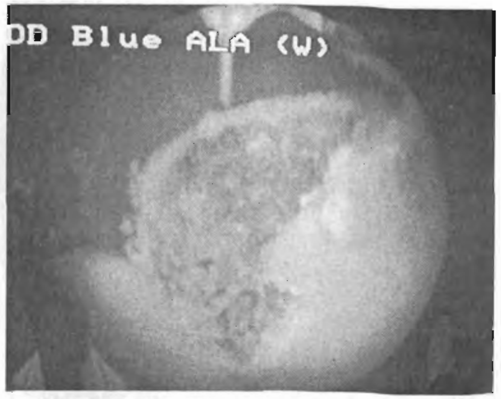


Fig. 5. Calcul în ureterocel stâng - aspect cistoscopic

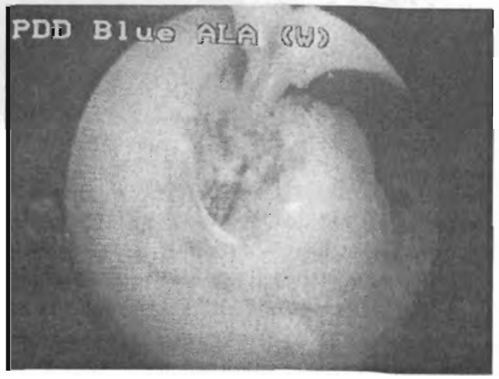


Fig. 7. Incizia ureterocelului drept

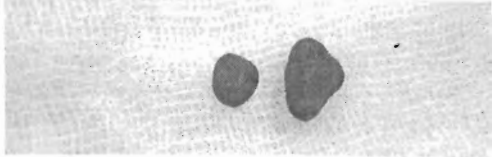


Fig. 9. Calculi ureterali pelvini drepți

S-a practicat ureteroscopie retrogradă cu evidențierea a doi calculi de culoare negricioasă (oxalat de calciu monohidrat) cu dimensiuni de 0,5 cm fiecare, ce au fost extrași în piesă unică (fig. 8, 9). De remarcat calibrul crescut al ureterului ceea ce a permis pătrunderea pe ureterul pelvin cu rezectoscopul.

Pacienta a avut o evoluție ulterioară simplă externându-se din spital în ziua a treia postoperatorie.

Controlul ecografic efectuat la o lună de la intervenție a relevat o ușoară distensie reziduală a sistemului pielo-caliceal bila-

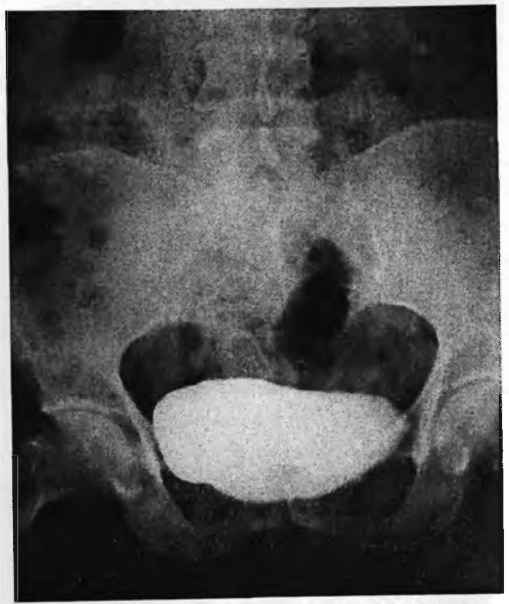


Fig. 10. Cistografie retrogradă de control

teral iar cistografia retrogradă a evidenţiat absenţa refluxului vezico - ureteral pasiv şi activ (fig. 10).

DISCUŢII

Este de remarcat faptul că, deşi este vorba de o malformaţie congenitală bilaterală care a prezentat şi complicaţii (ureterohidronefroză şi litiază secundară), pacienta era asimptomatică la momentul diagnosticului, descoperirea bolii realizându-se doar în urma unui control de rutină. Distensia bilaterală a sistemului pielocaliceal şi ureteral a funcţionat ca un factor de protecţie al rinichilor, apărând parenchimul renal de hiperpresiunea provocată de obstacolul distal. Astfel, în ciuda obstacolului bilateral evident, funcţia renală s-a păstrat în limite normale. În cazul de faţă s-au putut trata concomitent prin incizie transuretrală ambele ureterocele, metoda având rezultate foarte bune, fără apariţia refluxului vezicoureteral (3,6,9). De asemenea, s-a efectuat în acelaşi timp operator litotriţia endoscopică a calculului ureteral pelvin stâng luxat în vezică, cât şi ureteroscopia cu extragerea calculilor ureterali pelvini drepţi (8), urmare a migrării retrograde a calculilor din ureterocelul drept.

Particularitatea cazului din punct de vedere chirurgical a fost migrarea retrogradă a calculilor de pe partea dreaptă din ureterocel la nivelul ureterului pelvin, ceea ce a impus practicarea ureteroscopiei. Datorită calibrului crescut al ureterului pelvin (de trei ori mai mare decât al unui ureter normal), aceasta s-a practicat cu rezectoscopul iar extragerea calculilor migraţi s-a efectuat cu ansa de rezecţie

BIBLIOGRAFIE

1. Schulman CC. Ureterocele. In: Glenn JF editor. *Urologic Surgery*. 4th ed. Philadelphia: JB Lippincott Comp, 1991, 381-388.
2. Glassberg KI et al. Suggested terminology for duplex systems, ectopic ureters and ureteroceles. *J Urol* 1984; 132: 1153-1157.
3. Viville C. Endoscopic treatment of ureterocele and antireflux injection with teflon paste. *Eur Urol* 1990; 17: 321-324.
4. Tekgiel S, Riedmiller H, Gerharz E et al. Guidelines on paediatric urology. In: *Guidelines of European Association of Urology.* 2008: 63-66.
5. Tank ES. Experience with endoscopic incision and open unroofing of ureteroceles. *J Urol* 1984; 241-242.
6. Schlussel RN, Retik AB. Ectopic ureter, ureteroceles and other anomalies of the urether. In: *Campbell - Walsh Urology*. Elsevier, 2006, 3408-3409.
7. Hagg MJ, Mourachov PU, Snyder HM et al. The modern endoscopic approach to ureterocele. *J Urol* 2000; 163: 940-943.
8. Virseder JA. Surgery of ureterocele with lithiasis. *Arch Esp Urol* 2007; 31: 153-166.
9. Brueziere J. Ureterocele. *Ann Urol* 1992; 26: 202-211.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

BROŞAJUL PY-DESMANET ÎN FRACTURILE RADIUSULUI DISTAL

O. Alexa, I. Popia
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
Disciplina de Ortopedie-Traumatologie

PY-DESMANET PINNING IN DISTAL RADIUS FRACTURES (Abstract): Internal fixation by pinning is one of the most used methods of surgical treatment in fractures of the distal extremity of the radius. As in stable fractures a styloid pinning is satisfactory, in unstable fractures however we must resort to different patterns of pin insertion, in order to effectively prevent the secondary displacement of the fractured fragments. The elastic pinning described by Py and Desmanet is one of the possibilities of inserting the pins. The principle of this method is to use the bending-induced tension in the pins to counteract the postero-lateral displacing forces. The authors have treated by this technique five patients with distal radius fractures (3 women and 2 men) about 56 years of average age, all with good-quality bone, all with Colles' fracture pattern (2-4 cm above the radio-carpal articulation, no articular involvement, posterior displacement of the distal fragment). The reduction of the fractures was achieved by closed manipulation and controlled intraoperatively with the C-arm. We preferred to reduce the fractures before inserting the pins, although this is not compulsory, according to the authors of the technique. The approach was minimally-invasive, through two 1-cm long incisions. The pins, previously blunted and curved along the last centimeters, were introduced using a "T"-shaped handle. The potential complications, consisting of injuries of the many elements which cross the region, were avoided by sufficiently long incisions and identification and retraction of these elements (tendons, nervous branches) in order not to penetrate them with the pins. The aftertreatment consisted of immediate mobilization of the wrist in one patient, 21-day splinting in other two and 30-day splinting in the last two, depending on the intraoperative assessment of the stability of the fixation. The pins were removed at 45 days postoperatively in all cases. There were no complications such as loss of reduction or pin migration. In all cases, there were good anatomic and functional results. **Conclusions**: This method is relatively fast and simple, does not require special or expensive equipment and it gives good results in carefully selected cases. **Key words**: DISTAL RADIUS FRACTURE, PY PINNING, DESMANET PINNING, ELASTIC PINNING

În cazul fracturilor extremităţii distale a radiusului cu cominuţie minimă sau absentă, fixarea internă cu ajutorul broşelor este una din principalele metode de tratament chirurgical. Dacă în fracturile stabile este suficient un broşaj stiloidian, în cazul fracturilor instabile se recurge la diverse modalităţi de plasare a broşelor astfel încât să se prevină eficient redeplasarea fragmentelor osoase. Un astfel de montaj este broşajul elastic descris de Py şi Desmanet.

Principiul acestei tehnici constă în folosirea elasticităţii broşelor Kirschner introduse centromedular pentru a contracara forţele musculare care tind să deplaseze fragmentul distal posterior şi extern. Astfel, se introduc două broşe, cât mai aproape de marginea suprafeţei articulare a radiusului cu oasele carpiene, una din extern şi alta din posterior; cele două broşe se introduc astfel încât capetele lor proximale să nu penetreze corticala fragmentului proximal, rămânând în canalul medular şi acţionând în sensul menţinerii reducerii. Punctele de aplicaţie a forţelor corectoare sunt la nivelul punctelor de inserţie a broşelor în fragmentul distal. Aşadar, acest fragment trebuie să fie cât mai integru pentru menţinerea reducerii focarului de fractură.

CAZUISTICĂ

Broşajul Py-Desmanet nu a fost folosit până în prezent în România. Am optat pentru introducerea acestei tehnici în practica curentă datorită faptului că este simplă, puţin costisitoare şi oferă rezultate bune dacă este aplicată în cazuri atent selectate. Prin această metodă au fost trataţi de către autor cinci pacienţi (trei femei şi doi bărbaţi) ce prezentau fracturi ale radiusului distal. Tipul de fractură a fost asemănător în toate cazurile: traiect de fractură simplu sau cu minimă cominuţie, situat la 2-4 cm deasupra articulaţiei pumnului, fără interesare articulară şi cu deplasare posterioară (fig. 1.). Vârsta medie a pacienţilor a fost de 56,3 ani şi toţi prezentau radiografic un capital osos de bună calitate, fără osteoporoză.

Pentru intervenţia chirurgicală pacienţii au fost poziţionaţi în decubit dorsal pe masa chirurgicală, cu antebraţul şi mâna situate lateral, pe o masă radiotransparentă. În toate cazurile anestezia a fost loco-regională (bloc axilar) fapt ce a asigurat atât analgezia cât şi o bună relaxare a musculaturii antebraţului, pentru uşurarea manevrelor de reducere şi de menţinere a acesteia pe parcursul inserţiei broşelor.

Pregătirea implantelor se face prin curbarea 15-20° pe ultimii centimetri a două broşe Kirschner cu grosimea de 2 mm. Această formă a broşelor favorizează alunecarea lor pe suprafaţa internă a corticalei radiusului şi angajarea în canal proximal de fractură. Pentru inserţia şi manipularea broşelor sunt necesare o mandrină în „T" pentru introducerea broşelor şi cleşti pentru îndoirea şi tăierea broşelor.

Reducerea fracturii se face sub control Röntgen-TV, prin manevrele clasice (extensie, contraextensie şi manipulări în focar). Py recomandă ca fractura să fie redusă înaintea introducerii broşelor; dacă reducerea este făcută prealabil, broşele vor fi introduse în poziţia finală şi vor avea doar rolul de menţinere a reducerii. Desmanet nu consideră necesară reducerea, considerând că fractura se va reduce prin forţele elastice date de broşe. Nereducerea fracturii înainte de inserţia broşelor măreşte întrucâtva şansele ca broşele să se angajeze mai uşor în canalul medular şi să nu penetreze corticala opusă, în cazul unui os porotic. În toate cazurile operate am preferat să reducem fractura înainte de introducerea broşelor considerând că manevrele de reducere cu broşele deja inserate pot suprasolicita osul la nivelul orificiilor de introducere, unde este nevoie de menţinerea unui contact cât mai strâns metal-os.

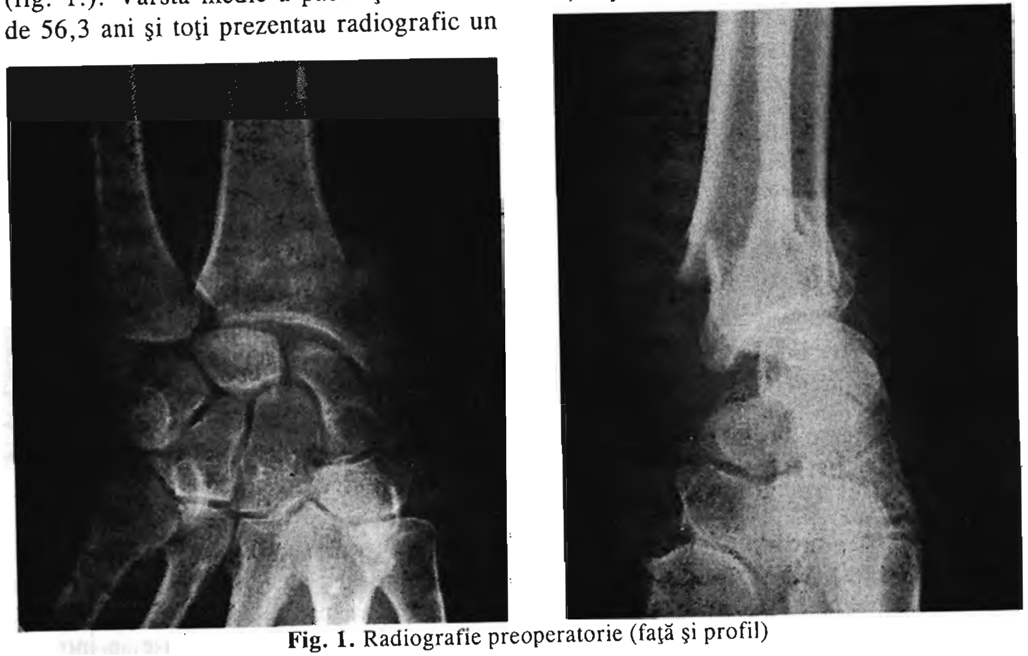


Fig. 1. Radiografie preoperatorie (faţă şi profil)

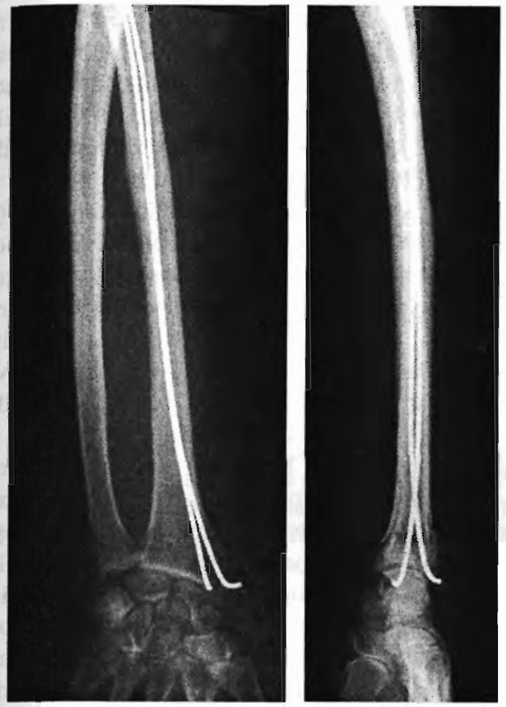


Fig. 2. Radiografie postoperatorie (faţă şi profil)

Abordul este minim invaziv, prin două incizii verticale, una la nivelul vârfului stiloidei radiale, iar cealaltă pe marginea posterioară a suprafeţei articulare a radiusului, între tuberculul lui Lister şi locul unde alunecă tendonul lungului extensor al policelui. Nu recomandăm introducerea broşelor percutanat deoarece creşte riscul lezării tendoanelor extensorilor. Inserţia broşelor se face cu mandrina în „T", după forarea orificiilor în os cu ţepuşa. Se evită lezarea elementelor anatomice întâlnite în regiune (artera radială, ramuri nervoase din ramul anterior al radialului, tendoane). Broşele se avansează până în osul subcondral al capului radial (fig. 2.).

Pentru îmbunătăţirea stabilităţii se poate suplimenta montajul prin introducerea unei a treia broşe, paralelă cu cea stiloidiană, combinarea cu broşajul clasic stiloidian sau stabilizarea articulaţiei radio-ulnare distale cu o broşă transversală introdusă prin capul ulnei până în extremitatea inferioară a radiusului. În nici unul dintre cazurile operate nu am considerat necesară sporirea stabilităţii prin aceste metode.

REZULTATE

Pentru a evalua valoarea tehnicii am urmărit şi notat dacă au existat complicaţii intraoperatorii. Tehnica broşajului Py, în pofida simplităţii nu este lipsită de posibilitatea apariţiei acestor complicaţii. Acestea pot consta în penetrarea cu broşele a corticalei opuse (sau ieşirea broşelor prin focar) sau lezarea tendoanelor (lung abductor şi scurt extensor police pentru broşa externă, lung extensor police pentru cea posterioară). În cazurile operate nu am întâlnit astfel de complicaţii; prevenirea penetraţiei s-a făcut prin utilizarea broşelor rotunjite la capăt (neascuţite) şi curbate şi respectând unghiul de introducere a broşelor în os (60-70°) iar prevenirea leziunii tendoanelor s-a făcut prin incizii suficient de lungi pentru a putea identifica tendoanele şi a le retracta, astfel încât să nu fie penetrate de broşe.

Conduita postoperatorie a constat în imobilizare pe atelă gipsată antebrahipalmară urmată de kinetoterapia articulaţiei pumnului. Durata imobilizării a fost variabilă şi a depins de aprecierea intraoperatorie a stabilităţii montajului şi de gradul de cominuţie al fracturii: în cazul unui pacient (42 de ani, fără osteoporoză sau cominuţie) mobilizarea a început a doua zi postoperator, în cazul a 2 pacienţi imobilizarea a fost de 21 de zile postoperator iar în cazul a 2 pacienţi de 30 zile postoperator. Controalele clinice şi radiografice s-au făcut în prima zi postoperator, la 21 de zile, la 45 de zile şi la 6 luni postoperator. În toate cazurile, broşele au fost extrase la 45 de zile postoperator.

Toate cazurile au avut evoluţie favorabilă. Nu s-au înregistrat complicaţii cum ar fi pierderea reducerii sau migrarea broşelor; această complicaţie în principiu este improbabilă dacă broşele au fost înfipte în osul subcondral al capului radial.

DISCUŢII

Broşajul elastic a fost introdus într-o primă formă de Py (1) în 1969; tehnica originală descrisă de acest autor consta în introducerea a două broşe de 2 mm diametru, una prin apofiza stiloidă radială iar cealaltă prin tuberculul lui Lister, ambele fiind avansate în canalul medular şi împiedicând deplasarea externă şi respectiv posterioară a fragmentului distal prin forţe de tip elastic. Prin această metodă s-a constatat însă o tendinţă la hipercorecţie în plan frontal a focarului fracturar, fragmentul distal fiind excesiv împins înspre cubitus de către broşa stiloidiană. În 1989, Desmanet (2) preia această tehnică, modificând-o prin introducerea broşei posterioare prin colţul postero-intern al extremităţii distale a radiusului, aproape de articulaţia radio-ulnară distală. Astfel, forţa elastică exercitată de această broşă dobândeşte şi o componentă orientată extern, care se opune hipercorecţiei ulnare date de broşa stiloidiană.

Există relativ puţine studii în literatura de specialitate care să cerceteze eficienţa broşajului Py sau care să îl compare cu alte metode de tratament chirurgical al fracturilor extremităţii distale a radiusului cu basculă posterioară. Dată fiind indicaţia principală a acestei metode (fracturi instabile, fără cominuţie importantă), comparaţii din punct de vedere al eficienţei se pot face cu broşajul intrafocal Kapandji. Desmanet (2) aplică tehnica broşajului elastic cu modificările amintite pe 130 cazuri de fracturi de radius distal, preferând introducerea broşelor percutan, fără incizie şi consemnând evoluţii favorabile în 74% din cazuri. Evoluţia nefavorabilă a fost corelată cu reducerea deficitară a corticalei anterioare. În aceste cazuri, Desmanet propune folosirea unei a treia broşe pentru a îmbunătăţi fixarea. Acelaşi autor (3) propune folosirea broşajului elastic pentru fixarea osteotomiilor radiale la pacienţi cu necroză aseptică a osului semilunar (boala Kienböck), obţinând rezultate favorabile în cele 4 cazuri studiate. În 1998, Ebelin (4), într-un studiu pe 100 fracturi nearticulare şi articulare de radius distal foloseşte broşajul elastic, obţinând rezultate bune şi foarte bune în 71 cazuri. Principalele complicaţii notate de acest autor au fost: deplasarea secundară (21%), afectarea ramului senzitiv al radialului (5%), rupturile de tendoane (2%) şi algodistrofia (1%). În urma acestui studiu, autorul recomandă să nu se folosească această metodă la pacienţii vârstnici sau în cazul fracturilor articulare. Rezultate similare obţine şi Flisch (5), tot în 1998, concluzionând că broşajul elastic este o metodă utilă în fracturi extraarticulare şi fără cominuţie importantă.

În ceea ce priveşte comparaţia între broşajul Py şi broşajul intrafocal Kapandji, există foarte puţine studii în literatura de specialitate. În 1994, Delattre (6) într-un studiu pe 62 pacienţi cu fracturi similare de extremitate distală de radius, foloseşte broşajul Kapandji în 28 cazuri şi broşajul Py în 34 cazuri, obţinând rezultate bune în 85% din cazurile cu broşaj Kapandji şi în 70% din cazurile cu broşaj Py. În 1998, Fikry (7) publică rezultatul unui studiu în care aplică broşajul Kapandji în 42 cazuri şi broşajul Py în 46 cazuri de fracturi de radius distal, obţinând rezultate superioare prin broşajul elastic: deplasare secundară a focarului fracturar în numai 2 cazuri cu broşaj Py versus 7 cazuri cu broşaj Kapandji, migrarea broşelor în 6 cazuri cu broşaj Kapandji versus zero cazuri cu broşaj Py. Rezultate superioare au fost obţinute atât din punct de vedere radiologic cât şi clinic. Din punct de vedere al pacienţilor, au fost consemnate rezultate similare în cele două grupuri de studiu. Astfel, Fikry indică folosirea broşajului Kapandji la pacienţi tineri cu fracturi fără cominuţie şi în fracturi în „T", iar a broşajului Py în celelalte cazuri.

BIBLIOGRAFIE

1. Py F. Traitement des fractures de l'extrémité inférieure de radius par ostéosynthèse percutanée, suivie de mobilisation immédiate du poignet. Apropos de 600 cas. *Thèse Méd* Tours, 1982.
2. Desmanet E. Osteosynthesis of the radius by double elastic spring-pinning. Functional treatment of the distal end fractures of the radius. A study of 130 cases. *Ann Chir Main* 1989; 8 (3): 193-206.
3. Desmanet E. Osteosynthesis in double elastic nailing of radial shortening osteotomy in Kienböck's disease. Apropos of 4 cases. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot* 1996; 82 (4): 327-30.
4. Ebelin M, Delaunay C, Le Balch T, Nordin JY. Embrochage élastique selon la technique de Py dans les fractures du radius distal. *Cahiers d'einseignement de la SOFCOT* 1998; 67: 103-110.
5. Flisch CW, Della Santa DR. Osteosynthesis of distal radius fractures by flexible intramedullary nailing (Geneva experience). *Chir Main* 1998; 17 (3): 245-54.
6. Delattre O, Saillant G, Lemoine J, Benazet JP, Roy-Camille R. Réduction et synthèse par brochage des fractures du poignet. Étude comparatif entre la technique de Kapandji et la technique de Py. *Rev Chir Orthop* 1994; 80: 94-107.
7. Fikry T, Fadili M, Harfaoui A, Dkhissi M, Zryouil B. Metaphysis fracture of the distal radius: Kapandji's or Py's pinning ? *Ann Chir Main Memb Super* 1998; 17 (1): 31-40.

NOUTĂŢI

NIVELURILE DE FIER NU SUNT PREDICTIVE PENTRU SUPRAVIEŢUIREA ÎN MIELOFIBROZA PRIMITIVĂ (MFP)

Medicamentele chelatoare de fier au fost intensiv promovate în tratamentul MFP, o afecţiune descrisă pentru prima oară în 1879 şi caracterizată printr-o proliferare în măduva osoasă a unei celule stem anormale ce determină o înlocuire a măduvei osoase cu ţesut conjunctiv. Tratamentul acestei fecţiuni (MFP) constă în primul rând din transfuzii sangvine. Consecutiv transfuziilor repetate, poate surveni o supraîncărcare a organismului cu fier. Această supraîncărcare este actualmente evaluată prin nivelurile plasmatice ale feritinei şi este prevenită prin utilizarea de medicamente chelatoare de fier. Un studiu publicat în *Am J Hematol* arată că nu există suficiente dovezi (în materie de îmbunătăţire a stării de sănătate) pentru prescrierea intensivă a acestor medicamente. Totodată, articolul atrage atenţia asupra rolului exagerat acordat medicamentelor chelatoare de fier comparativ cu celelalte posibilităţile de tratament etiologic ale MFP (transplantul de celule stem) (Tefferi J et al. Red blood cell transfusion need at diagnosis adversely affects survival in primary myelofibrosis-increased serum ferritin or transfusion load does not. *Am J Hematol* 2009; 84 (5): 265-269).

V. Bredeţean

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

MICRO- AND NANOPARTICLES - MEDICAL APPLICATIONS

Anca Jătariu[1], **Cătălina Peptu**[1], **M. Popa**[1], **Anca Indrei**[2]
"Gh. Asachi" Technical University Iaşi
School of Chemical Engineering and Environmental Protection
1. Department of Natural and Synthetic Polymers
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
School of Medicine
2. Department of Anatomy

MICRO AND NANOPARTICLES - MEDICAL APPLICATIONS (Abstract): It is a long-standing need of the pharmaceutical industry, physicians, and patients to improve pharmaceutical formulations by establishing simpler, less expensive preparations and treatments, while reducing toxicity. This need can be met with the know-how of drug delivery science that has already made advance developments in improved delivery of injectibles, oral formulations, drug device implants, as well as topical and transdermal delivery formulations, especially in the case of drug delivery to the brain, an *untouchable* region by traditional drug delivery systems. The reason behind the failure of conventional delivery systems in reaching the brain is the blood brain barrier (BBB) composed of tight tissues making it impervious to outside agents. Nanotechnology has the potential to address and resolve this challenge and make brain a reachable target for drug delivery systems, by combining unique elements of size, surface activity and charge of nanostructures. Micro and nanoparticles have opened up unexpected ways in diagnostics and therapeutics in medicine. The previous treatment strategies in the fields of autoimmune diseases and cancer involved non-targeted treatment options with extensive "collateral damage." Nanodelivery of drugs is predicted to reduce this collateral damage, extend the drug's availability and effectiveness at the site, and reduce toxicity and cost with a high pay-off load. In this review we present the role of micro and nanoparticles in drug delivery and some applications in the health care fields. **Key words**: NANOPARTICLES, MICROPARTICLES, DRUG DELIVERY, MEDICAL APPLICATIONS

The science of drug delivery may be described as the application of chemical and biological principles to control the *in vivo* temporal and spatial location of drug molecules for clinical benefit. When drugs are administered, only a very small fraction of the dose actually hits the relevant receptors or sites of action, and most of the dose is in fact wasted also by being taken up into the "wrong" tissue, removed from the "right" tissue too quickly, or destroyed en route before arrival. Scientists researching drug delivery search to address these issues in order to maximize drug activity and minimize side effects (1).

Drug delivery is becoming an extremely challenging science. The reasons are essentially threefold:

(1) the emergence of the more demanding low-molecular-weight molecules and biomacromolecules with either poor aqueous solubility, reduced tissue permeation, or both,

(2) the increased use of biological materials with poorly understood physical properties or uncertain shelf life issues, and

(3) the realization that if the portion of the dose responsible for adverse events could be directed away from sites where they originate, toxic side effects would become less frequent, thus advantage the therapeutic index.

Today's world requires that drug delivery systems be precise in their control of drug distribution and, if possible, react directly to the local environment of the pathology in order to achieve a dynamic and beneficial interaction with the host pathology or physiology.

Polymers used in controlled drug delivery, including micro and nanoparticles, may be classified as either (*i*) natural and synthetic, or (*ii*) biodegradable and nonbiodegradable.

Examples of naturally occurring biodegradable and biocompatible polymers used to prepare micro and nanoparticles include: cellulose, gelatin, pullulan, chitosan and alginate,. The characteristics and performance, particularly in vivo, of micro and nanoparticles prepared using natural polymers may be less predictable as these polymers may vary widely in chemical composition and physical properties. In addition, natural polymers are often mildly immunogenic. Conversely, it is possible to synthesize polymers with precise chemical composition, resulting in highly predictable physical properties such as solubility, permeability, and rates of biodegradation.

As a result, synthetic polymers are also more easily designed for specific applications, such as controlled rates of dissolution, permeability, degradation, and erosion, as well as for targeting. Examples of synthetic biodegradable polymers used to prepare nanoparticles include: polylactide, poly-(lactide-co-glycolide), polyanhydrides, poly-(Í-caprolactone), and polyphosphazene. Biodegradability and biocompatibility are important properties of polymeric materials that are to be injected or implanted into the body. Nonbiodegradable polymeric nanoparticles may be used for controlled drug delivery and also in the complimentary field of diagnostic imaging. Examples of nonbiodegradable, synthetic polymers used in drug delivery include poly(methyl methacrylate) while polystyrene particles have been used as diagnostic agents.

In recent years, several very efficient and elegant methods have been developed to prepare unfilled polymer particles – the so-called "polymer nanocontainers". The investigation of these systems is a highly active field of research in which numerous new publications appear every month. Due to their high stability and tunable properties, such polymer nanocontainers are believed to have a high potential for applications in biotechnology, such as confined reaction vessels, protective shells for enzymes, or as 'traps' for the selective recovery of biotransformation or polymerase chain reaction products. However, while currently most applications are just beginning to emerge or still only visions, polymer nanocontainers have successfully entered the biomedical field, where they have promoted major interest as drug delivery devices.

Living organisms are built of cells that are typically 10 µm across. On the other hand, the cell parts are much smaller and are in the sub-micron size domain. Even smaller are the proteins with a typical size of just 5 nm, which is comparable with the dimensions of smallest manmade nanoparticles. This simple size comparison gives an idea of using nanoparticles as very small probes that would permit us to spy at the cellular machinery without introducing too much interference (2). Understanding of biological processes on the nanoscale level is a strong driving force behind development of nanotechnology (3).

Polymer micro and nanoparticles can be prepared by physical methods, such as emulsification, coacervation and spray-drying, and by chemical method like heterogeneous polymerization. These preparative methods give a variety of particles in terms of size, surface chemistry, composition, surface texture and morphology. It is posible to design and prepare desirable polymeric particles, although some trial and error is still necessary to obtain one's goal. For each purpose, the paticles have been improved in terms of quality and functionality, as well as productibility (4).

NANOPARTICULATE DRUG DELIVERY IN CANCER TREATMENT

Several nanoparticulate drug delivery systems are reported for the application in cancer therapy, transferring conjugated paclitaxel-loaded nanoparticles (5), nanovaccines (6), adriamycin-loaded nanoparticles for hepatoma treatment (7), magnetic poly (butyl cyanoacrylate) nanospheres with aclacinomycin A in gastric cancer, near-infrared absorption nanospheres (8), polypropylenimine dendrimer nanoparticles for oligonucleotides (9), lytic-peptide-bound magnetite nanoparticles for breast cancer treatment (10), ceramic-based nanoparticles entrapping water-insoluble photosensitizing anticancer drugs (11), and poly(Í-caprolactone) nanoparticles for the delivery of Tamoxifen for breast cancer treatment (12,13).

Yoo and Park (14) have reported a study of folate receptor targeted anticancer therapy using Doxorubicin-poly(ethylene glycol) folate nanoconjugates. Doxorubicin and folate were, respectively, conjugated to alpha and omega terminal of the poly(ethylene glycol) chain. The conjugates assisted formation of Doxorubicin nanoaggregates with average size of 200 nm in diameter when combined with an excess amount of depronated Doxorubicin in an aqueous phase. In vivo studies have shown significant reduction in the tumor volume in a human tumor xenograft nude mouse model. Controlled release of paclitaxel through submicroemulsion with particle size of 45 to 270 nm was evaluated in vitro and in vivo for their antitumor activity by Kang et al. (15). They used poly(lactic-co- glycolic acid) polymer for formulating self-emulsifying drug delivery systems and showed the efficiency of the system.

OCULAR DELIVERY SYSTEM

The absorption of topically applied ophthalmic drugs is very poor because of efficient mechanisms protecting the eye from unsafe materials and agents. These protective mechanisms, such as reflex blinking, lachrymation, tear turnover, and drainage, result in the rapid removal of foreign substances from the eye surface. Additionally, the very tight epithelium of the cornea also compromises the permeation of drug molecules. Consequently, the contact time of conventional eye drops is only about five minutes, and typically less than 5% of the applied dose penetrates passively across the cornea and reaches the intraocular tissues (16). Therefore, frequent instillations of eye drops are necessary to maintain therapeutic drug level in the tear film or at the site of action. However, the frequent use of highly concentrated drug solutions may induce toxic side effects after absorption via the blood vessels in the conjunctival stroma or nasal mucosa into systemic circulation. Moreover, cellular damage at the ocular surface could occur (17,18).

The reasons for the development of various particulate systems for sustained drug delivery is based on possible entrapment of the particles in the ocular mucus layer covering the eye surface, and the interaction of bioadhesive polymer chains with mucins. This will increase the precorneal residence time of the drug, allowing for an extension of the absorption time. Furthermore, by controlling drug release and enhancing drug absorption, this could also improve corneal drug penetration.

An interesting aspect of utilizing nanoparticles for ocular drug delivery is that it is in a liquid dosage form which can be easily administered by patients (19, 20). Another significant challenge is to deliver therapeutic doses of drugs to treat diseases affecting the posterior segment of the eye. It is difficult to deliver drugs to the posterior segment by topical application because of the diffusional distance and the counter-directional intraocular convection from the ciliary body to Schlemm's canal. The most logical way is to deliver drugs by intraocular injections thus bypassing anatomical and physiological barriers. However, drugs of short half-lives (e.g., antibiotics, antiviral drugs) would require repeated injections, which could increase the risk of retinal detachment or bleeding. Therefore, biodegradable nanoparticles were developed for intraocular administration in order to obtain a controlled, sustained drug release and thus reducing the number of injections required (21).

The choice of the polymer for preparing particulate systems will depend on the physicochemical properties of the drug. The goal is to perform high drug loading in order to minimize the required volume to be instilled into the eye. Corneal uptake and transport of nanoparticles should be facilitated by small particle size (100–200 nm) (22). Drug-release kinetics are synchronized by the composition and preparation procedure of the particles, the molecular weight and degradation of the polymers, and the physicochemical properties of the entrapped drug molecule.

It is important to note that the particle size for ophthalmic applications should not exceed 10 pm because with larger sizes a scratching feeling might occur. Therefore, a reduction in particle size improves the patient comfort during administration (23).

NANOPARTICLES AND BLOOD BRAIN BARRIER

Blood - brain barrier (BBB) is one of the principal barriers usually not easy to break in for drugs such as anticancer agents, antibiotics, peptides, oligo-molecules, and macromolecules. The inaccessibility of drug to the brain tissues is attributed to the presence of "tight junctions between the endothelial cell linings in the brain blood vessels" (24). Further, any drug across the endothelial lining is transported back into the blood stream by means of ABC transporters which are referred to as the "very active drug transport system." Thus, cranial drug delivery seems to be a major challenge in the medical world.

The transcytotic vesicular mechanism enables the transport of large molecules, while "specific transport systems for solute uptake are present on apical and basal membranes" but the efflux transporters of broader specificity are also present. Efflux transporters do so with lipid-soluble drugs making them unreachable from the central nervous system. The dynamic of brain interstitial fluid (ISF) and the disease-caused BBB dysfunction contribute to the complication of choosing a therapy. After all considerations, the drug vehicle interacts with the abovementioned barriers at various point of time.

Nanoparticles provide to be an attractive solution to the BBB issue. Nanoparticles of smaller size when functionalized or suitably surface modified, mimicking low-density lipoproteins, bind to their specific receptors and diffuse into the endothelial cells ultimately reaching the interior of brain (25). Hence the size and surface modification/functionalization allow the transport of nanodelivery vehicles across the BBB. However, the possibility of unintended intrusion via BBB into the brain is widely speculated; thus there must be high selectivity with regard to any uptake via BBB to avoid the unwanted particles.

One of the successful establishments of drug delivery to brain includes the delivery of nanoparticles coated by polysorbate 80. Nanoparticles of drug vehicles coated with polysorbate 80 showed better uptake across BBB. A notable instance was, during delivery of doxorubicin where the drug level in brain was in the ratio of 60 : 1 for the polysorbate-coated delivery versus the non-coated respectively (24).

With regard to nano drug delivery the possibility of delivery vehicles crossing the BBB can be reasoned to an improved retention of the nanoparticles in the brain capillaries along with adsorption to the capillary walls could cause high concentration gradient facilitating the transport across the endothelial cells and ultimate delivery to the brain, "a general surfactant effect characterized by a solubilization of the endothelial cell membrane lipids that would lead to membrane fluidization and an enhanced drug permeability through the blood–brain barrier" (25), nanoparticles reaching the openings in tight junctions between endothelial cells could permeate either in free form or in bound form together with the nanoparticles, endocytosed NP releasing drug within the cells and delivered into brain, nano vehicles could be transcytosed through endothelial cells into brain, polysorbate 80 coating on nano vehicles could inhibit the efflux system. As mentioned earlier the NP delivery vehicle confronts the above-mentioned mechanism individually or collectively, hence the reason for a nano vehicle entering the brain could be attributed to one of these mechanisms or a combination of them.

TRANSDERMAL DRUG DELIVERY

Experimental researches over years have been exploring the possibility and extent of realization of transdermal drug delivery. The first successful model of transdermal delivery was a scopolamine patch created in 1979. There have been earlier studies on the barriers to a transdermal delivery dating back to as early as 1924. In the United States, annual expenditure in drug delivery in more than 3 billions USD, such a high profile industry namely health care is not driven for mere disease and injury therapies but also for novel applications such an nicotine delivery. The consequences of delivery nicotine by patches through skin have led to creation of more than one million smokers who were otherwise (26).

The major challenges faced in the transdermal application are the possibility of an efficient and easy delivery of drug through skin's major barrier such as stratum corneum (SC), the epidermis etc. Of the two mentioned, SC is the major challenge. The stratum corneum is 10–15 μm thick, while epidermis is 50–100 μm thick and the dermis layer is about 2–3 mm thick. Usually, a drug/vehicle for a transdermal delivery cannot easily pass through the SC.

Nanotechnology plays a promising role in transdermal applications. The smaller size enables easy permeation. Further, surface modifications facilitate targeted delivery. The present day research explores the use of certain external agencies in combination with nano vehicles for delivery. Notable among them are chemical enhancement, electricity assisted electropermeabilization, low frequency ultrasound, pressure waves (PW) mediated, and micro needles.

In order to deliver drugs at therapeutic useful rates, micro needles which are in the size of a micron dimensions were designed capable of delivering drugs when poked into the skin. Drugs made of nanoparticles can efficiently be delivered directly into the epidermis via this method. Needles of different sizes, shapes, and materials namely stainless steel, titanium, and silicon wafers are available. These needles usually have a small radius tip with thick walls which have lesser probability of fracture when using. To further improve this, micro needle arrays were designed which would have about 480 needles of each 430 μm long within a 2 sq. cm. area. Although this method could not be considered in case of skin burns and injuries, it is promising otherwise (27).

The application of PW facilitates temporary poration in the SC and allows the drugs/vehicles to easily pass through. Moreover it is simple, efficient, and has immediate recovery with regard to SC functionality by resuming to its normal character of being a high barrier (28). The duration of exposure to PW is a crucial factor as it is directly proportional to the permeation through SC. The successful establishment of delivering 100 nm latex beads shows promising future for the delivery of DNA plasmids and proteins into the epidermis.

Pressure waves generated from intense laser radiation applied on skin for transdermal drug delivery are gaining interest. It has been substantiated to show better permeation of drug vehicles across the stratum corneum (SC) and cell membrane, and ease of the very process of delivery. A typical PW for the transdermal delivery would be of several hundred bars, a PW of 300–1000 bar for a period of 100 ns to 1 μm ; here insulin was delivered to control blood glucose level . The damages that might be caused due to PW are minimal and can be reduced by appropriate design of PWs (29).

Instead of having a traditional approach, even targeting the sweat glands and hair follicle being explored which show a sooner and better delivery when compared to overall skin flux (30), they work as shunt routes.

Other transdermal applications include dendrimers which are extensively used to deliver drugs, vaccines, and chemotherapeutic agents for cancer therapy . Some of the dendrimerbased bionano applications include gene delivery, targeted cancer therapy, *in vivo* diagnoses (MRI), antiinfective agent delivery, vaccine and peptide delivery and drug delivery through oral and transdermal routes and ocular applications (31).

DRUG DELIVERY SYSTEMS FOR THE TEMPOROMANDIBULAR JOINT

Temporomandibular joint (TMJ) disorders are the main cause of chronic facial pain and a major cause of disability. Unlike other degenerative joint diseases, which are more common in the elderly, TMJ disorders affect up to one-third of adolescents and young adults. The chronic pain associated with progressive TMJ degeneration limits talking, chewing, and other basic daily activities. Current treatments for TMJ disorders are limited. In severe cases, both effective pain reduction and restoration of TMJ function remain an unmet challenge (32).

One main type of TMJ disorder is an osteoarthritis-like degenerative joint disease characterized by progressive bone and cartilage destruction and subsequent inflammation, which exacerbates joint tissue catabolism (33). Consequently, pharmacologic approaches to TMJ disorders have paralleled those for symptomatic treatment of osteoarthritis, including non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and intra-articular injections of either steroids or hyaluronic acid into the superior joint space. However, use of these agents remains controversial in light of decades of mixed reports of intra-articular injections either accelerating TMJ destruction or triggering regeneration (34). As in the case of osteoarthritis, no agents are available to reverse the underlying TMJ disease.

Consequently, current pain reduction techniques are effective in the early stages of the disease, but fail to alleviate the severe, chronic pain caused by advanced joint degeneration (35). There is a need for sustained release agents that effectively reduce pain and have minimal systemic side effects, enabling longterm administration without the disastrous ectopic effects seen with NSAIDs like rofecoxib (36).

Advances in the field of drug delivery will improve pain management and also aid progress in the emerging field of TMJ regeneration. The standard treatment for severe TMJ degeneration is currently surgical joint replacement. Research in TMJ repair and regeneration has proceeded at a cautious pace following the experience with early alloplastic TMJ implants, whose tendency for premature failure triggered immune reactions resulting in catastrophic joint damage (37). Although improved products are currently available for total joint replacement, even these have a limited lifetime. The potential need for serial surgeries to replace worn out prostheses has raised concerns, since numerous clinical studies have indicated that serial TMJ surgeries often result in joint mutilation (38).

Drug delivery systems can be used to either modify the joint environment prior to implantation, or to deliver pro-regenerative signals in a spatially and temporally controlled fashion, so as to trigger joint healing while avoiding systemic drug release, ectopic effects, and other such complications. The limitations of current therapeutic strategies for TMJ disorders have led to increased interest in tissue engineering strategies, which combine cells, bioactive factors, and implantable scaffolds to trigger joint regeneration (39). However, TMJ tissue engineering remains a small and emerging field. Research to date has focused on separately engineering the fibrocartilagenous TMJ disc and mandibular condyle, with few preclinical or in vivo studies.

Since joint tissue, particularly the fibrocartilagenous disc, has very limited healing capacity, TMJ tissue engineering strategies must deliver key growth factors and other molecular signals that induce joint regeneration. Development of systems for controlled release of these factors will be critical to the success of TMJ regeneration (40). Tissue engineered products may never work properly unless researchers identify and find a means to control the underlying joint degeneration. The emerging intra-articular drug delivery systems described in this paper have the potential to both treat pain associated with TMJ disorders and deliver growth factors and other signals to control the underlying joint degeneration.

NANOPARTICLES FOR DENTAL RESTORATIVES

At present many investigations are being carried out to improve the properties of composite materials, such as abrasion resistance, rheology, or mechanical properties. For instance, *in situ* formed layered silicate nanofillers increase the strength and toughness of acrylic nanocomposites (41). The literature describes organopolysiloxane particles of 5–200 nm of diameter, among others, as compact modifiers for dental materials (42). Because of the low interaction between these particles, the load of the corresponding composite could be increased, resulting in reduced polymerization shrinkage.

Most dental composites contain particulate fillers. Composites are reinforced by incorporating fibers or whiskers, in particular. However, fiber reinforced dental filling composites are rarely described in the literature. The gradual addition of silanized short-cut glass fibers to a Bis-GMA/TEGDMA based composite resulted in an increase in the elastic modulus and a decrease in the tensile strength. Xu et al. (43) used ceramic single-crystalline whiskers as fillers to reinforce composites.

The filler mass fraction ranged from 0 to 70%. Compared with microfill and hybrid composites, the whisker reinforced material showed significantly higher flexural strength values. Whiskers exhibit some potential for being used to reinforce composite filling materials; however, at least the whiskers described in Xu et al. are not that easy

accessible. Recently, nanoparticles, such as tantalum oxide (44) or zirconium oxide have been incorporated into dental composites to reinforce them, to improve their radiopacity, or to produce transparent materials (45). In the case of nonsilicate filler, surface modification with methacrylate silanes is less efficient. Tantalum oxide or zirconium oxide nanoparticles were therefore surface functionalized with phosphate methacrylates, zirconates, or aluminozirconates (46).

Nanoparticles have the tendency to agglomerate. In this case, the refractive index of the particles has to be adjusted to the refractive index of the polymer matrix to obtain translucent materials. By means of the sol-gel process, mixed oxide particles can be prepared that have a refractive index that depends on the ratio of the different metal ions used.

CONCLUSIONS

In the last decade the development of micro- and nanoparticles in the clinical application has increased due to their potential for better diagnostic procedures and/or treatment modalities. Controlled drug delivery represents a frontier area of science, involving a multi-disciplinary approach with the aim of improving patient health care. A local controlled delivery system has the advantage that toxic side effects associated with systemic drug application can be drastically reduced or largely avoided. Nanoparticles coupled with biological active substances have expanded a variety of biomedical applications.

REFERENCES

1. Allen T, Cullis P. Drug delivery systems : entering the mainstream. *Science* 2004 ; 303 : 1818- 1822.
2. Taton TA. Nanostructures as tailored biological probes. *Trends Biotechnol* 2002 ; 20 : 277-279.
3. Whitesides GM. The ‘right’ size in nanobiotechnology. *Nature Biotechnology* 2003, 21 : 1161-1165.
4. Haruma K. Functional polymer microspheres. *Prog Polym Sci* 2000 : 25 : 1171-1210.
5. Sahoo SK, Ma W, Labhasetwar V. Efficacy of transferring conjugated paclitaxel loaded nanoparticles in a murine model of prostate cancer. *Int J Cancer* 2004 ; 112 : 335-340.
6. Fifis T, Gamvrellis A, Crimeen-Irwin B et al. Size dependent immunogenicity : therapeutic and protective properties of nano vaccines against tumors. *J Immunol* 2004 ; 173 : 3148-3154.
7. Chen JH, Wang L, Ling R et al. Body distribution of nanoparticles containing adriamycin injected into the hepatic artery of hepatoma bearing mice. *Dig Dis Sci* 2004 ; 49 : 1170-1173.
8. O’Neal DP, Hirsch LR, Halas NJ, Payne JD, West JL. Photo thermal tumor ablation in mice using near infra red absorbing nanoparticles. *Cancer Lett* 2004 ; 209 (2) : 171-176.
9. Santhakumaran LM, Thomas T, Thomas TJ. Enhanced cellular uptake of a triplex- forming oligonucleotides by nanoparticles formation in the presence of polypropylenimine dendrimers. *Nucleic Acid Res* 2004 ; 32 (7) : 2102-2112.
10. Kumar CS, Leuschner C, Doomes EE, Henry L, Juban M, Hormes J. Efficacy of lytic peptide bound magnetite nanoparticles in destroying breast cancer cells. *J Nanosci Nanotechno* 2004 ; 4 (3) : 245-249.
11. Roy I, Ohulchanskyy TY, Pudavar HE, et al. Ceramic based nanoparticles entrapping water soluble photosensitizing anticancer drugs a novel drug carrier system for photodynamic therapy. *J Am Chem Soc* 2003 ; 125 (26) : 7860 7865.
12. Chawla JS, Amiji MM. Cellular uptake and concentrations of tamoxifen upon administration in poly(ε-caprolactone) nanoparticles. *AAPS Pharm Sci* 2003 ; 5 (1) : 28-34.
13. Chawla JS, Amiji MM. Biodegradable poly(ε-caprolactone) nanoparticles for tumor targeted delivery of Tamoxifen. *Int J Pharm* 2005 ; 249 : 127-138.
14. Yoo HS, Park TG. Folate receptor targeted delivery of Doxorubicin nano aggregates stabilized by Doxorubicin PEG-folate conjugate. *J Control Release* 2004 ; 100 : 247-256.

15. Kang BK, Chon SK, Kim SH et al. Controlled release of paclitaxel from microemulsion containing PLGA and evaluation of anti tumor activity in vitro and in vivo. *Int J Pharm* 2004 ; 286 : 147-153.
16. Lee VHL, Robinson JR. Review : topical ocular drug delivery : recent developments and future challenges. *J Ocul Pharmacol* 1986, 2 (1) : 67-108.
17. Salminen L. Review : systemic absorption of topically applied ocular drugs in humans. *J Ocul Pharmacol* 1990 ; 6 (3) : 243-249.
18. LeBourlais C et al. Ophthalmic drug delivery systems—recent advances. *Prog Retinal Eye Res* 1998 ; 17 (1) :33-58.
19. Zimmer A, Kreuter J. Microspheres and nanoparticles used in ocular delivery systems. *Adv Drug Deliv Rev* 1995 ; 16 (1) : 61-73.
20. Alonso MJ, Sanchez A. The potential of chitosan in ocular drug delivery. *J Pharm Pharmacol* 2003 ; 55 (11) :1451-1463.
21. Yasukawa T et al. Drug delivery systems for vitreoretinal diseases. *Progr Retin Eye Res* 2004 ; 23 (3) : 253-281.
22. Rabinovich-Guilatt L et al. Cationic vectors in ocular drug delivery. *J Drug Targeting* 2004 ; 12 (9-10) : 623-633.
23. Kreuter J. Evaluation of nanoparticles as drug delivery systems I : Preparation methods. *Pharm Acta Helv* 1983 ; 58 : 196-209.
24. Kreuter J. Application of nanoparticles for the delivery of drugs to the brain. *Int Congress Series* 2005 ; 1277 : 85-94.
25. Abbott NJ. Physiology of the blood-brain barrier and its consequences for drug transport to the brain. *Int Congress Series* 2005 ; 1277 : 3-18.
26. Hoet PHM, Brueske-Hohlfeld I, Salata OV. Nanoparticles-known and unknown health risks. *J Nanobiotechnol* 2004 ; 2 (1) : 12–17.
27. Langer R. Transdermal drug delivery : past progress, current status, and future prospects. *Adv Drug Deliv Rev* 2004 ; 56 (5) : 557-558.
28. Prausnitz MR. Microneedles for transdermal drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 2004 ; 56 (5) : 581-587.
29. Doukas AG, Kollias N. Transdermal drug delivery with a pressure wave. *Adv Drug Deliv Rev* 2004 ; 56 (5) : 559-579.
30. Barry BW. Drug delivery routes in skin : a novel approach. *Adv Drug Deliv Rev* 2002 ; 54 : 31-40.
31. Duncan R, Izzo L. Dendrimer biocompatibility and toxicity. *Adv Drug Deliv Rev* 2005 ; 57 (15) : 2215-2237.
32. Detamore MS, Athanasiou KA, Mao J. A call to action for bioengineers and dental professionals : directives for the future of TMJ bioengineering. *Ann Biomed Eng* 2007 ; 35 : 1301–1311.
33. Tanaka E, Detamore MS, Mercuri LG. Degenerative disorders of the temporomandibular joint : etiology, diagnosis, and treatment. *J Dent Res* 2008 ; 87 : 296–307.
34. Dionne RA. Pharmacologic treatments for temporomandibular disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1997 ; 83 : 134–142.
35. Gerwin N, Hops C, Lucke A. Intraarticular drug delivery in osteoarthritis. *Adv Drug Deliv Rev* 2006 ; 58 : 226–242.
36. Bennett JS, Daugherty A, Herrington D, Greenland P, Roberts H, Taubert KA. The use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). *Circulation* 2005 ; 111 : 1713–1716.
37. Dimitroulis G. The role of surgery in the management of disorders of the temporomandibular joint : a critical review of the literature. Part 1. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2005 ; 34 : 107–113.
38. Mercuri LG, Giobbie-Hurder A. Long-term outcomes after total alloplastic temporomandibular joint reconstruction following exposure to failed materials. *J Oral Maxillofac Surg* 2004 ; 62 : 1088–1096.
39. Detamore MS, Athanasiou KA. Motivation, characterization and strategy for tissue engineering the temporomandibular joint disc. *Tissue Eng* 2003 ; 9 : 1065–1087.
40. Moioli EK, Clark PA, Xin X, Lal S, Mao JJ. Matrices and scaffolds for drug delivery in dental, oral and craniofacial tissue engineering. *Adv Drug Deliv Rev* 2007 ; 59 : 308–324.
41. Muelhaupt R, Dietsche F, Doell W, Thomann R. Acrylic nanocomposites containing organoclay nanofillers : Morphology development, properties, and fracture behaviour. 219th American Chemical Society National Meeting, 2000, 26–30.

42. Ebenhoch J, Kreis G, Hierstetter T, Geck M. Organopolysiloxanpartikel enthaltende acrylathaltige Zusammensetzung. *DE Patent Application* 19816148 (to Wacker-Chemie GmbH), 1999.
43. Xu HH, Smith DT, Schumacher GE, Eichmiller FC, Antonucci JM. Indentation modulus and hardness of whisker-reinforced heat-cured dental resin composites. *Dent Mater* 2000 ; 16 : 248-254.
44. Furman BR, Rawls HR, Wellinghoff ST, Dixon H, Lankford J, Nicolella D. Metal-oxide nanoparticles for the reinforcement of dental restorative resins. *Crit Rev Biomed Eng* 2000 ; 28 : 439-443.
45. Furman BR, Rawls HR, Norling BK, Wellinghoff ST. Mechanically strong and transparent or translucent composites made using Zirconium oxide nanopatricles. *Intl Patent Application* PCT WO 00/69392 (to Southwest Research Institute), 2000.
46. Taira M, Toyooka H, Miyawaki H. Studies on radiopaque composites containing ZrO_2-SiO_2 fillers prepared by the sol-gel process. *Dent Mater* 1993 ; 9 : 167–171.

NOUTĂŢI

SCINTIMAMOGRAFIA CU O GAMMA CAMERA DEDICATĂ DE ÎNALTĂ REZOLUŢIE VERSUS MAMOGRAFIE ÎN DETECŢIA CANCERULUI DE SÂN

Un studiu a comparat scintimamografia (SM) planară preoperatorie cu ^{99m}Tc tetrofosmin, realizată cu o gama camera dedicată de înaltă rezoluţie (DBC), cu mamografia convenţională, în detecţia cancerului de sân multifocal, multicentric şi bilateral şi al impactului în planificarea chirurgicală. Astfel, SM a fost : pozitivă la 41 din 44 pacienţii cu neoplasm mamar (93,2%) vs mamografie la 40 din 44 (90,1%) ; a evidenţiat cancer multifocal la 87,5% din pacienţi vs mamografie la 47,5% ($P<0,0005$) ; a detectat un număr semnificativ mai mare de situsuri invazive adiţionale comparativ cu mamografia (89,6% vs 37,9%), $P<0,0005$; a evidenţiat multifocalitatea/multicentricitatea ipsilaterală în 35% din cazuri iar bilateralitatea în 100% de cazuri vs mamografie în 75% din cazuri. Specificitatea SM a fost de 88,25% vs 52,9% pentru mamografie. SM a modificat managementul chirurgical în 16% din cazuri, demonstrând utilitatea sa în diagnosticul şi managementul cancerului de sân (Spanu A et al. Scintimammography with high resolution dedicated breast camera and mammography in multifocal, multicentric and bilateral breast cancer detection : a comparative study. *QJ Nucl Med Mol Imag* 2009 ; 53 : 133-143).

Ana Maria Stătescu

EFECTUL ALBIRII DENTARE ASUPRA ELIBERĂRII DE IONI DE MERCUR DIN RESTAURĂRILE CU AMALGAM

Albirile dentare reprezintă proceduri frecvent aplicate în cabinetele de medicină dentară dar şi auto-administrate de către pacienţi la domiciliu. Efectul agenţilor de albire asupra restaurărilor dentare deja existente în cavitatea orală este mai puţin cunoscut. Totuşi, este de presupus că fiind substanţe puternic oxidante, aceştia pot reacţiona cu suprafaţa unor materiale dentare. In cazul amalgamului, mecanismele prin care agenţii de albire interacţionează cu aliajul nu sunt bine înţelese, dar este cunoscut faptul că rezultatul este eliberarea de ioni de mercur. Autorii studiului au evaluat cantitatea de ioni de mercur eliberaţi din amalgamul dentar aflat în contact cu soluţii de peroxid de hidrogen. Cantitatea de ioni a fost măsurată prin spectroscopie de masă. Pentru toate perioadele de contact s-au înregistrat cantităţi semnificativ mai crescute de ioni de mercur în cazul soluţiilor care au conţinut peroxid de hidrogen comparativ cu lotul în care soluţia de stocaj a fost apa distilată. Rezultatele studiului atrag atenţia asupra potenţialului toxic al albirilor dentare aplicate la pacienţii care prezinţă multiple restaurări cu amalgam (Al-Salehi SK. Effects of bleaching on mercury ion release from dental amalgam. *J Dent Res* 2009 ; 88(3) : 239-243).

Gianina Iovan

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

ŞTIINŢE FUNDAMENTALE **ARTICOLE ORIGINALE**

THE PROTECTIVE EFFECT OF SUPEROXID DISMUTASE ON ISOLATED HUMAN MAMMARY ARTERIES PREINCUBATED WITH TRIGLYCERIDE-RICH REMNANT LIPOPROTEINS

Germaine Săvoiu[1], Simona Drăgan[2], Carmen Cristescu[3], Corina Şerban[4], Lavinia Noveanu[5], Daniela Ionescu[3], T. Nicola[6], Oana Duicu[4], Andreea Răducan[4], Mirela Voicu[3]

"V. Babeş" University of Medicine and Pharmacy Timişoara
School of Pharmacy
1. Department of Anatomy, Physiology and Pathophysiology
School of Medicine
2. Department of Preventive Cardiology and Rehabilitation
3. Department of Clinical Pharmacy
4. Department of Pathophysiology
5. Department of Physiology
6. Clinic of Oncology

THE PROTECTIVE EFFECT OF SUPEROXID DISMUTASE ON ISOLATED HUMAN MAMMARY ARTERIES PREINCUBATED WITH TRIGLYCERIDE-RICH REMNANT LIPOPROTEINS (Abstract): The main changes of the plasma lipid profile in patients with endothelial dysfunction are the increased triglyceride content of the lipoprotein remnant particles, the presence of the small and dense LDL particles and the decreasing of the HDL-cholesterol level. **Material and method**: Considering these observations, we performed „in vitro" experiments using human mammary artery rings, in order to examine the effect of the lipoprotein „remnants" on endothelium-dependent vasodilatation induced by cumulative doses (10^{-9} M - 10^{-4} M) of adenosine (ADP) and to study the effect on endothelial - independent vasodilatation induced by cumulative doses (10^{-9} M–10^{-4} M) of sodium-nitropruside (NSP), respectively. **Results**: Our results showed that 1 hour pre-incubation with triglyceride - rich lipoprotein remnants diminished the endothelial-dependent vasodilator response to ADP, but it has not modified the endothelial-independent vasodilator response to NSP. Vascular response was expressed as maximal vasodilatation from the 10^{-4}M phenilephrine (PE) induced pre-contraction, considered as reference. In the case of ADP, the maximal vasodilatation was ranged in 36.50% ± 10.81% interval, comparing with the control group that presented a maximal vasodilatation of 66.15% ± 19.41% ($p < 0.005$). In the case of NSP the maximal vasodilatation was ranged in 99.78% ± 10.53% interval, comparing with the control that presented a maximal vasodilatation of 98.99% ± 12.45% ($p = 0.44$). One hour co-incubation of the rings with a solution containing lipoprotein remnants (1% oxidized IDL (ox-IDL) and antioxidant factor (150 U/mL 10^{-4} M Superoxid dismutase (SOD) significantly reduced the impairment of the vasodilatation response to ADP. Maximal vasodilatation of ox-IDL and SOD coincubated human mammary artery rings was 58.50% ± 10.63% compared to the control, were the maximal vasodilatation was 66.15% ± 19.41% ($p<0.01$), but has not modified the vasodilatation response to NSP (99% ± 0.53% vs control 98.99% ± 12.45%, $p=0.56$). **Conclusion**: The endothelial dysfunction induced by the triglyceride-rich lipoprotein „remnants", could contribute to the pathogenesis of atherosclerosis and the treatment with high doses of antioxidants could „protect" the endothelium against the pro-atherogenic action of the lipoprotein „remnants". **Key words**: SOD, HUMAN MAMMARY ARTERIES, IDL

There is a growing body of evidence from epidemiologic, clinical, and experimental studies that indicates that elevated triglyceride levels are an independent risk factor for cardiovascular disease (1).

Hypertriglyceridemic patients at risk for cardiovascular disease often develop a plasmatic lipoprotein profile characterized by: triglyceride-rich remnant, small and dense LDL, and low level of HDL cholesterol (2).

The success of a vessel in acting as a bypass conduit is influenced greatly by the integrity and function of its endothelium (3). The endothelium releases a number of key mediators that help to control vascular tone, smooth muscle cell migration and proliferation, as well as platelet activation. One of these substances is nitric oxide ($NO_{\bullet}$). $NO_{\bullet}$ not only acts as a vasodilator substance but also decreases the adhesive properties of the endothelium with respect to the interaction with leucocytes and platelets.

This keeps the graft patent and decreases the rate of its attrition. Endogenous $NO_{\bullet}$ can be consumed by its reaction with another free radical, the superoxide anion ($O^{2-}_{\bullet}$) to produce a toxic substance, peroxynitrite (ONOO-).

If the atherogenic role of HDL cholesterol decrease as well as of LDL phenotype B, with recognized predisposition for peroxidation, is well established, the data concerning the atherogenity of triglyceride rich remnants are contradictory and scarce (2).

The present study was designed to investigate "in vitro" the effect of superoxid dismutase (SOD) on isolated human mammary arterial rings preincubated with triglyceride rich remnant lipoproteins.

MATERIAL AND METHOD

Preparation of remnant lipoproteins

Venous blood from hypertriglyceridemic subjects (TG =200 mg %) was collected into specimen tubes containing EDTA. Lipoproteins have been separated from plasma by sequential density gradient ultracentrifugation (4). First, chylomicrons (chy) and very low density lipoproteins (VLDL) were removed by centrifugation of plasma (non-protein density 1.006) at 50.000 x g for 3.5 hours at 12-15°C. Then, remnant lipoproteins (IDL with density 1.006 to 1.019 g/mL) were concentrated in a layer at the top of mixture with 1.019 g/mL density after ultracentrifugation during 20 to 22 hours at a speed of 100.000 x g.

Isolated native IDL was oxidatively modified by incubation with 5 µM $CuSO_4$ for 3 h at 37°C. Oxidized IDL (ox-IDL) was eluted with phosphate buffer solution (PBS) to 5 mg proteins/ml.

Preparation of vascular rings

Experiments were performed on human mammary arteries from patients undergoing coronary by-pass intervention. The segments of artery were cleared of connective tissue with care taken not to damage the intimal surface, and cut into 2 to 3 mm wide rings. The rings were suspended between two parallel stainless steel hooks in a 10 ml organ bath (BIOPAC System Inc., USA) containing modified Krebs-Henseleit buffer (composition: NaCl 118 mmol/L; $NaHCO_3$ 25 mmol/L; KCl 4.7 mmol/L; $CaCl_2$ 1.6 mmol/L; KH_2PO_4 1.2 mmol/L; $MgSO_4$ 1.2 mmol/L; glucose 11.1 mmol/L) maintained at 37°C and continuously ventilated with a mixture of 95% O_2 and 5% CO_2 (fig. 1). One of the hooks was connected to a FORT 10 force transducer (World Precision Instruments Inc.) for isometric tension recording. For data acquisition we used a MP100 hardware and AcqKnowledge software, version 3.7.2 (BIOPAC System Inc., USA).

The rings were equilibrated for 60 minutes under a resting tension of 1.75 cN and the buffer was replaced every 15 min. To confirm viability of vascular smooth muscle vessel rings were contracted twice

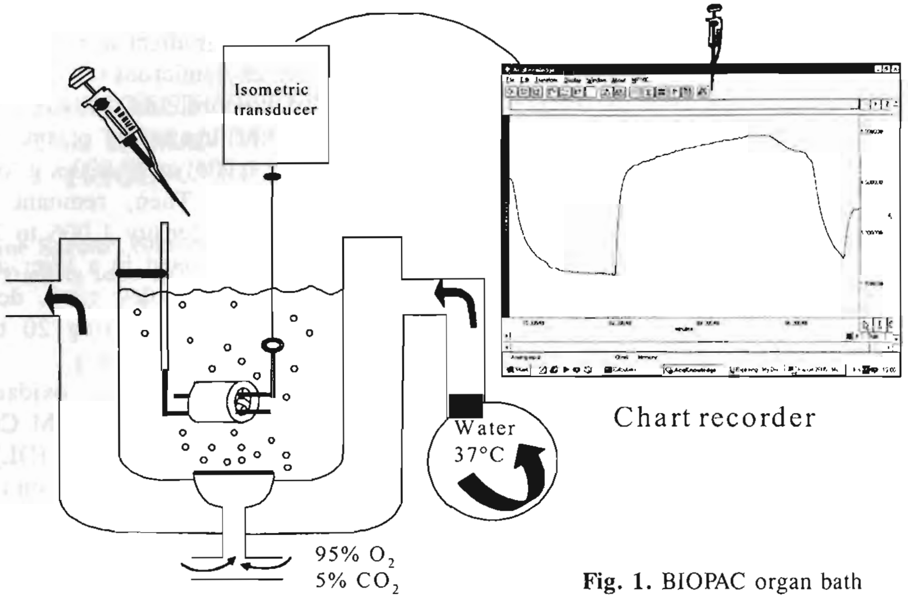


Fig. 1. BIOPAC organ bath

with KCl 70 mmol/L. A relaxation response to adenosine diphosphate (ADP), an endothelium-dependent vasodilator, of 15% or more from the stable tension induced by KCl triggered depolarization was considered as functioning endothelium (5).

Experimental protocol

After washout and return to baseline, the rings were incubated for 1 hour with a solution of 1% ox-IDL (100 ĕL proteins/ml Krebs buffer) (n = 5), or coincubated for 1 hour with 1% ox-IDL and SOD 150 U/mL (n = 5) or with 1% ox - IDL.

In control group (n = 5) the vascular rings were exposed to the same volume of PBS. After incubation and repeated washing, indomethacin (10^{-5}M) was added to organ bath and left throughout the experiment to eliminate the influence of prostaglandin synthesis. To study endothelium-dependent relaxation, we preconstricted rings with phenylephrine (PE; 10^{-5}M) and a cumulative concentration-response curve to ADP (10^{-9} - 10^{-4}M) was obtained in all rings. After this first step, the baths were washed out three times with fresh Krebs solution and the rings were allowed to stabilize until the tension return to baseline. Finally, to examine endothelium-independent relaxation, vascular rings were exposed to sodium nitroprusside in increasing doses (from 10^{-9} to 10^{-4}M) following precontraction by PE and in the presence of indomethacin. All chemicals were purchased from Sigma Chemicals Co.

Relaxation response of each human mammary artery ring was assessed by measuring the reduction in vascular tone at cumulative dose of the vasodilator agent and expressed as percentage change from the stable tension produced by PE (100 x şprecontracted tension – measured tensionţ/ şprecontracted tension – baseline tensionţ). Maximal relaxation was the greatest reduction in tone to response to a vasodilator.

Data analysis

All data in the text and figure are expressed as mean ± SD of experiments from n vascular rings. Statistical comparison was performed using 2-tailed Student's test. The differences were considered to be significant at a level of $P < 0.05$.

TABLE I

Vascular reactivity data obtained of human mammary artery rings coincubated with ox-IDL and SOD

PARAMETERS	INITIAL	ox – IDL	ox – IDL + SOD	p
I. Precontraction induced by PHE 10^{-5} M				
g forţă	3.59 ± 0.66	3.60 ± 0.97	3.66 ± 1.01	0.34
II. Endothelial-dependent relaxation induced by 5'ADP (%)				
10^{-9}M	0	0	0	
10^{-8}M	1.05 ± 0.33	1.08 ± 0.55	1.98 ± 0.37	0.43
10^{-7}M	5.59 ± 4.30	5.64 ± 4.46	7.43 ± 4.09	0.54
10^{-6}M	28.13 ± 7.16	18.25 ± 1.86	25.50 ± 7.00	0.03
10^{-5}M	46.35 ± 12.12	26.00 ± 4.90	39.50 ± 7.50	0.03
10^{-4}M	66.15 ± 19.41	36.50 ± 10.81	58.50 ± 10.63	0.01
III. Endothelial-independent relaxation induced by NPS (%)				
10^{-9}M	2.81 ± 4.55	2.48 ± 5.57	3.49 ± 1.77	0.24
10^{-8}M	35.13 ± 14.16	36.24 ± 17.61	36.24 ± 17.61	0.26
10^{-7}M	63.02 ± 33.99	61.77 ± 32.09	61.77 ± 32.09	0.46
10^{-6}M	97.15 ± 12.38	97.85 ± 10.48	90.55 ± 10.48	0.43
10^{-5}M	98.20 ± 11.10	98.22 ± 3.85	97.22 ± 13.85	0.42
10^{-4}M	98.99 ± 12.45	99.78 ± 10.53	99 ± 0.53	0.56

Note: dates are presented as mean ± standard deviation

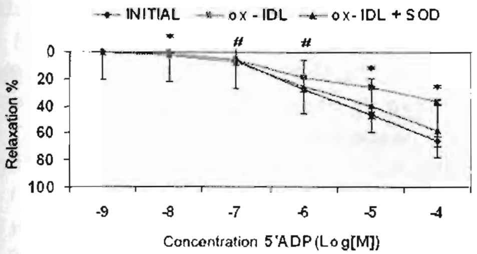


Fig. 2. Dose-response curves obtained on vascular mammary rings coincubated with ox-IDL and 5'ADP (*p = 0.01, #p = 0.04 *vs.* ox-IDL)

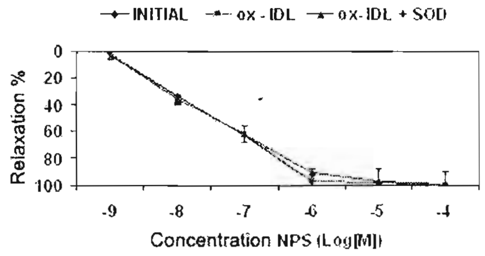


Fig. 3. Dose-response curves obtained on vascular mammary rings coincubated with ox-IDL and SOD

RESULTS

The results of assessment of vascular reactivity in human mammary artery rings are presented in table I. Values are means + SD. PE: phenylephrine; ADP: adenosine dyphosphate; SOD - superoxid dismutase, NSP: sodium nitroprusside.

The values of preconstriction with PE were not significantly different between groups. In PE-preconstricted vascular rings, ADP elicited a concentration-dependent relaxation that was diminished in human mammary arteries incubated with ox-IDL (fig. 2). Endothelium-independent relaxation induced by SNP was similar in all groups (fig. 3).

Dates about comparative vascular reactivity initially, after preincubation with ox-IDL and after coincubation ox-IDL with SOD are listed in table I. The figure 1 shows graphically, dose-response curves obtained to 5ˇADP and the figure 2 shows graphically, dose-response curves obtained to NSP.

The statistical analysis showed modification only in the case of endothelial-dependent vasodilatation. Coincubation of ox-IDL with SOD significantly increased the vasodilator response to 5ˇADP for all the doses used, respectively 10^{-8} M (p =

0.01), 10^{-7}M (p = 0.04), 10^{-6}M (p = 0.04), 10^{-5}M (p = 0.01) and 10^{-4} M (p = 0.01). Comparative to initial reactivity (control) we didn't obtained significant differences between used doses, showing the preservation of the vasodilator endothelial-dependent response.

DISCUSSIONS

The present data indicate that in human mammary artery rings, ADP-mediated endothelium-dependent relaxation was significantly attenuated by preincubation with oxidized IDL (ox-IDL). A nonspecific attenuation of vasodilator capacity is not very likely, since the endothelium-independent vasodilatation induced by sodium nitroprusside was preserved. The fact, that the cyclooxigenase inhibitor indomethacin was present in all experiments, strongly suggests that remnant lipoproteins may induce primary impairment of endothelial vasomotor function by decreasing the release and/or activity of nitric oxide (NO) in vascular endothelial cells. Our results are in agreement with the findings reported by the team of H. Yasue, in isolated rabbit aortas (6) and in human coronary arteries (7).

As the SOD system is an important antioxidant system in human vascular beds, we studied the effect of preincubation of human artery mammary rings with this antioxidant (3).

Recent it was revealed that increased serum triglyceride levels are closely related to atherosclerosis, independently of serum levels of high-density lipoproteins and low-density lipoproteins (8).

Among triglyceride-rich lipoproteins, remnant lipoproteins may be oxidatively modified in the arterial intima and cause an increase in the susceptibility of vascular endothelium to oxidative stress, via lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) (9). This mechanism may play a role in the genesis of endothelial dysfunction in subjects with high remnant lipoprotein levels. Other molecular mechanisms for proatherogenic properties of remnant lipoproteins are following: increased adhesion of monocytes to vascular endothelial cells monocytes; increased smooth muscle cell proliferation, independently of oxidative stress via epidermal growth factor receptor transactivation; and induced foam cell formation in macrophages via apoB48 receptor (9).

CONCLUSIONS

Triglyceride-rich remnant lipoproteins impair vasomotor function of endothelium in isolated human mammary arteries. Endothelial dysfunction induced by these remnants could contribute to the pathogenesis of atherosclerosis associated with hypertriglyceridemia. Therefore, the administration of the antioxidant agents may protect the endothelium against the remnants lipoproteins.

The implication of the oxidative mechanism in exercitation of the direct effects was sustained by protective character of coincubation of the vascular mammary rings with an antioxidant factor (SOD).

Our studies proved the benefic effect of the presence in vitro of an antioxidant factor and sustain the importance of the endogen antioxidant capacity of the body.

This conclusion supports the concept that each of the changes in the plasma lipoproteins associate with elevated triglyceride plasma level contribute to the increased risk of premature cardiovascular disease.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by the following research grants from the Romanian Ministry of Education and Research: CNCSIS grant type A, code 71/2005; CEEX grant type P-CD, code 81/2006 Academy of Medical Sciences; VIASAN grant type PED, code 034/2004.

REFERENCES

1. Gotto A. Triglyceride as a risk factor for coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1998; 82: 22Q–25Q.
2. Brewer BH. Hypertriglyceridemia: changes in the plasma lipoproteins associated with an increased risk of cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 1999; 83: 3F–12F.
3. Mangoush O, Athanasiou T, Nakamura K et al. Antioxidant properties of the internal thoracic artery and the radial artery. *Heart, Lung and Circulation* 2008; 17: 40-47.
4. Havel RJ, Eder HA, Bragdon JH. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J Clin Invest* 1955; 34: 1345–1353.
5. Fira-Mladinescu O, Hâncu M, Săvoiu G. An experimental model for studing the vasomotor function of vascular endothelium on aortic ring from rat. *Medicina în evoluţie* 2002; 3: 30–34.
6. Doi H, Kugiyama K, Ohgushi M et al. Membrane active lipids in remnant lipoproteins cause impairment of endothelium-dependent vasorelaxation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 1918–1924.
7. Kugiyama K, Doi H, Motoyama T et al. Association of remnant lipoprotein levels with impairment of endothelium-dependent vasomotor function in human coronary arteries. *Circulation* 1998; 97: 2519–2526.
8. Nakajima K, Nakano T, Tanaka A. The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: the comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clin Chim Acta* 2006; 367: 36–47.
9. Kawakami A, Yoshida M. Remnant lipoproteins and atherogenesis. *J Atheroscler Thromb* 2005; 12: 73–76.

NOUTĂŢI

CLASE TERAPEUTICE CU RISC ÎNALT PENTRU RISCUL DE SINCOPĂ LA SUBIECŢII ÎN VÂRSTĂ

O meta-analiză ce evaluează riscul de sincopă la subiecţii în vârstă de peste 60 de ani utilizând datele exhaustive publicate în revistele internaţionale între anii 1996 ?i 2007 este realizată de Woolcott şi colaboratorii. Metodele baysiene au permis integrarea datelor noi obţinute într-o serie de meta-analize precedente, pentru a se estima Odds ratio (OR) astfel actualizate. Din cele 11.118 de articole identificate, doar 22 au corespuns criteriilor de includere. Meta-analizele au fost complet realizate pentru 9 clase terapeutice (folosind datele de la 79 081 subiecţi), astfel: antihipertensive - OR=1,24, interval de încredere la 95% (IÎ 95) 1,01-1,5; diuretice - OR=1,07, IÎ 95 1,01-1,14; betablocante - OR=1,01, IÎ 95 0,86-1,17; sedative şi hipnotice - OR=1,47, IÎ 95 1,35-1,62; neuroleptice şi antipsihotice - OR=1,59, IÎ 95 1,37-1,83; antidepresive - OR=1,68, IÎ 95 1,47-1,91; benzodiazepine - OR=1,57, IÎ 95 1,43-1,72; narcotice - OR=0,96, IÎ 95 0,78-1,18; antiinflamatoare nesteroidiene - OR=1,21, IÎ 95 1,01-1,44. O ajustare statistică integrând principalii factori confuzionali potenţiali a condus la rezultate oarecum diferite pentru unele din clasele terapeutice investigate (ORA semnificând odds ratio ajustată): diuretice - ORA= 0,99, IÎ 95 0,78-1,25; neuroleptice şi antipsihotice - ORA= 1,39, IÎ 95 0,94-2,00; antidepresive - ORA= 1,36, IÎ 95 1,13-1,76; benzodiazepine - ORA= 1,41, IÎ 95 1,20-1,71. Această analiză confirmă existenţa unor clase terapeutice, cu precădere sedativele, hipnoticele, antidepresivele şi benzodiazepinele, ce trebuie utilizate cu prudenţă maximă la subiecţii vârstnici, pe cât posibil în doze minime eficace (Woolcott JC et al. Meta-analysis of the impact of 9 medication classes on falls in elderly persons. *Arch Intern Med* 2009; 169: 1952-1960).

Al.D. Ciochină

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

IDENTIFICAREA SEMNIFICAŢIEI PROGNOSTICE A FENOTIPULUI ASOCIAT LEUCEMIEI ÎN CORELAŢIE CU ALŢI MARKERI BIOLOGICI LA PACIENŢII CU LEUCEMIE ACUTĂ MIELOBLASTICĂ

Angela Dăscălescu[1], Mihaela Zlei[2], Georgiana Grigore[2],
C. Dănăila[1], Daniela Jitaru[2], E. Carasevici[3]
Universitatea de Medicină şi Farmacie"Gr.T. Popa"Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Disciplina de Hematologie
3. Disciplina de Imunologie
Spitalul Clinic Judeţean de Urgenţă "Sf. Spiridon" Iaşi
2. Laboratorul de Imunologie Tumorală

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF LEUKEMIA-ASSOCIATED PHENOTYPE IN CORRELATION WITH OTHER BIOLOGIC MARKERS IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA PATIENTS (Abstract): Leukemic cells have unique aberrant phenotypes, which permit identification of this cells at diagnose and in evolution of the disease. Signaling molecules with other cells and bone marrow stroma are part of the leukemic cells phenotype. Genetic and molecular abnormalities have the main prognostic significance and confer the leukemic cell status. The main aim of the current study is to identify correlation between recognized prognostic factors in acute myeloid leukemia (AML) patients and other phenotypic markers. **Material and method**: Imunophenotypic analysis (BDFACS CantoII, FACSDiva Software) was performed on peripheral blood/bone marrow aspirate samples of 56 patients diagnosed with AML (9 M0, 3 M1, 10 M2, 4 M3, 28 M4/M5, 1 M6, 1 M7) between 2007-2009 in Hematology Department of "Sf. Spiridon" Hospital Iaşi. We used an extended panel of monoclonal antibodies and we determined the level of expression of cytokines receptors (IL3Ra, IL7R) and chemokines (CXCR4, CKR5). **Results**: In our study, IL7R expression on AML blasts was significant correlate with low WBC count at diagnosis (p=0.04) and with multilinear displasia (p=0.01), high CXCR4 expression was correlate (p=0.05) with lack of response at first induction therapy and CD123 (IL3Ra) expression was correlate with M4 FAB phenotype. Survival was negative influenced by presence of IL3R on AML blasts, but flt3 mutations, CXCR4, IL7R expression on leukemic cells, other phenotypic aberrancies did not influenced treatment response and survival in our patients population. **Conclusion**: Complete investigation of leukemic cells phenotype extended with cytokines/ chemokines receptors at diagnostic is useful for correct characterization of the disease, for discover new prognostic categories and for better identification of minimal residual disease. **Key words**: ACUTE MYELOID LEUKEMIA, IMMUNOPHENOTYPE, PROGNOSTIC, CYTOKINES, CHEMOKINES

Leucemia acută mieloblastică (LAM) este o forma agresivă de neoplasm ce apare datorită unor alterări genetice la nivelul progenitorilor mieloizi. Imunofenotiparea este foarte utilă în diagnosticul şi clasificarea leucemiilor acute mieloblastice alături de morfologie, citochimie şi citogenetică (1).

Factorii de prognostic ce se consideră că influenţează semnificativ răspunsul la tratament şi supravieţuirea sunt multipli parametri clinici şi biologici cum ar fi: vârsta peste 60 de ani, LAM secundară versus de novo, un număr crescut de leucocite la diagnostic, o valoare crescută a lacticdehidrogenazei (LDH), mutaţiile genei FLT3 (1). Anomaliile citogenetice reprezintă unul din cei mai acceptaţi factori de prognostic (2). Semnificaţia prognostică a markerilor determinaţi prin flowcitometrie la nivelul celulelor leucemice rămâne deocamdată neclară (2). Unele studii au sugerat că CD13, CD14, CD15, CD34 şi expresia antigenilor limfoizi - CD2, CD7, CD19, CD56 au o semnificaţie prognostică la pacienţii cu LAM (2).

O mare parte din pacienţii cu LAM prezintă un fenotip asociat leucemiei distinct de cel al progenitorilor mieloizi normali (3). Acesta rezultă din: asincronismul de expresie al antigenilor (expresia simultană a markerilor specifici celulelor tinere şi adulte la nivelul unei singure celule, cum ar fi coexpresia CD34 şi CD15), infidelitatea de lineaj- expresia unor antigeni limfoizi la nivelul blaştilor mieloizi, expresia înaltă a unui antigen- expresia anormal crescută a uni antigen pe suprafaţa unei celule, absenţa unor antigeni specifici de lineaj- de exemplu lipsa CD13 si CD33 la nivelul blaştilor mieloizi (3). O posibilă explicaţie a prezenţei acestui fenotip asociat leucemiei la nivelul blaştilor ar fi prezenţa anomaliilor citogenetice ce alterează patternul normal al expresiei antigenilor (4).

Alţi factori de prognostic identificaţi recent sunt expresia receptorilor pentru chemokine şi citokine la nivelul celulelor leucemice (5). În acest sens, multiple studii susţin că expresia înaltă a CXCR4 la nivelul celulelor leucemice din LAM reprezintă un factor de prognostic negativ (6).

Studiul nostru efectuat pe un lot de 56 de pacienţi are ca scop caracterizarea completă a celulelor leucemice la diagnostic atât în ceea ce priveşte fenotipul cât şi expresia unor receptori pentru chemokine şi citokine, precum şi prezenţa mutaţiei Flt3 şi stabilirea unor corelaţii prognostice.

MATERIAL ŞI METODĂ

Au fost folosite probele de aspirat medular şi/sau de sânge periferic recoltate pe EDTA de la 56 de pacienţi cu leucemie acută mieloblastică. Probele au fost recoltate la diagnostic în perioada iulie 2007-iulie 2009.

Diagnosticul a fost pus pe baza datelor morfologice şi imunofenotipice. Caracteristicele lotului de bolnavi sunt prezentate în tabelul I.

S-au recoltat probe de sânge periferic pe EDTA pentru identificarea mutaţiilor flt3 la diagnostic.

Imunofenotiparea s-a realizat pe probe de aspirat medular şi/sau sânge periferic cu liză eritrocitară. Analiza prin citometrie în flux multiparametrică (6 culori) s-a realizat cu un citometru FACSCanto II (BD-Becton Dickinson, software achiziţie FACSDiva, BD, software analiza FlowJo-Tri Star Inc.). Pentru analiza fenotipică s-a folosit un panel de 29 de anticorpi monoclonali: CD45, CD14, CD3, CD5, CD7, CD4, CD8, CD19, CD20, CD22, CD33, CD13, CD15, CD10, HLA-DR, CD16/56, CD34, CD117, CD38, CD71, CD41, CD64, CD235a, Tdt, MPO, CD79a, CD36, CD11b, CD11c, CD56, CD133. S-a determinat nivelul de expresie al receptorilor pentru chemokine/citokine: CXCR4, CKR5, IL3Ra, IL7R şi s-a detectat MFIR (Mean Fluorescence Intensity Ratio) pentru aceşti receptori. S-a utilizat analiza multiparametrică cu 6 culori cu o combinaţie de markeri necesari pentru strategia optimă de gatting a populaţiei celulare de interes şi pentru a stabili statusul de diferenţiere celulară în raport cu expresia CD133 şi CD34. S-a considerat pozitivitatea receptorilor la o valoare a MFIR de 2 cu o expresie intermediară MFIR între 2 şi 5, şi înaltă MFIR> 5.

Analiza moleculară pentru determinarea mutaţiilor genei Flt3 ITD şi D835 în probele de sânge periferic/aspirat medular la

TABELUL I

Caracteristicile lotului de pacienţi diagnosticaţi cu leucemie acută mieloblastică

Caracteristici	Frecvenţă
Sex (B/F)	29/27
Vârstă medie la diagnostic	65 (18-82 ani)
Numărul de leucocite la diagnostic (mediana x10^9/L)	13,06 (0,56-399)
Valoarea Hb la diagnostic (mediana g/L)	69,50 (38-129)
Numărul de plachete la diagnostic (mediana x10^9/L)	35 (5-371)
Asocierea displaziei multilineare (prezentă/absentă)	23/33
Mediana valorii LDH la diagnostic (U/L)	475 (136-2378)
Clasificarea FAB	
M0	9
M1	3
M2	10
M3	4
M4	20
M5	8
M6	1
M7	1
Prezenţa mutaţiilor genei Flt3 (prezente/absente)	7/49

cei 56 de pacienţi cu LAM la diagnostic, a fost realizata prin extracţie ADN, amplificare PCR, migrare în gel de agaroză 2%.

REZULTATE

Am identificat un fenotip aberant asociat leucemiei la 31 din cei 56 de pacienţi analizaţi. Cele mai frecvente anomalii fenotipice în lotul nostru au fost: infidelitatea de lineaj - prezenţa markerilor limfoizi: prezenţa CD7 la 9 cazuri, prezenţa CD19 într-un caz, prezenţa CD56 în 3 cazuri, lipsa unor markeri fideli de lineaj - în 4 cazuri am depistat lipsa CD33, iar în alte 4 cazuri lipsa CD13, precum şi anomalii complexe cum ar fi: absenţa CD13 asociată cu prezenţa CD7, prezenţa aberantă la nivelul aceleiaşi populaţii de blaşti a CD56 şi a CD19, asincronism de maturaţie: CD34+, CD117+, CD33+, HLA/DR+, CD15+ în 3 cazuri.

În ceea ce priveşte expresia receptorilor pentru citokine am identificat prezenţa IL7R la 18 cazuri, iar în 5 din aceste cazuri o expresie înaltă a acestui receptor (MFIR mai mare ca 5). Am observat de asemnenea corelaţia semnificativă statistic între prezenţa IL7R la suprafaţa celulelor leucemice şi numărul de globule albe mai mic de 30x10^9/L la diagnostic ($p=0,04$) şi, de asemenea, între prezenţa IL7R pe suprafaţa blaştilor şi prezenţa displaziei medulare multilineare la diagnostic ($p=0,01$).

Expresia CXCR4 a fost prezentă la 27 de cazuri din cele analizate, la 17 pacienţi remarcându-se o expresie înaltă a CXCR4 la nivelul celulelor leucemice. Expresia înaltă a CXCR4 (MFIR mai mare ca 5) la nivelul blaştilor LAM în lotul nostru de pacienţi a influenţat negativ semnificativ statistic ($p=0,05$) răspunsul terapeutic la tratamentul de inducţie.

Expresia IL3Ra (CD123) la nivelul blaştilor în lotul nostru de pacienţi a fost întâlnită în 26 de cazuri, remacându-se o expresie înaltă în 14 cazuri. Expresia CD123 la nivelul blaştilor leucemici a fost prezentă semnificativ statistic la pacienţii cu formele FAB M4/M5 ($p=0,06$) şi a influenţat semnificativ statistic supravieţuirea pacienţilor din lotul nostru, prezenţa CD123 la nivelul blaştilor leucemici având o influenţă negativă asupra supravieţuirii ($p=0,02$).

Expresia CKR5 (CCR5) a fost identificată la nivelul celulelor leucemice la 19 pacienţi din lotul nostru, la 11 din aceştia identificându-se o expresie înaltă a acestui receptor. Expresia CCR5 s-a corelat semnificativ statistic în lotul nostru cu prezenţa CD13 la nivelul blaştilor leucemici.

Evoluţia pacienţilor din lotul nostru: răspunsul terapeutic la tratamentul de inducţie a remisiunii şi supravieţuirea globală nu au fost influenţate semnificativ statistic de nici unul din factorii analizaţi: aberaţiile fenotipice, expresia receptorilor pentru chemokine şi citokine (cu excepţia IL3Ra), prezenţa mutaţiilor genei Flt3.

DISCUŢII

Expresia receptorilor pentru citokine a fost identificată la nivelul celulelor leucemice din diferite forme de leucemie acută (7), dar semnificaţia acestora nu este încă suficient cunoscută. Aceşti factori de creştere sunt probabil implicaţi în prevenirea apoptozei celulelor tumorale, stimularea proliferării celulare (IL-7, IL-10 şi IL-15) (8), controlul modulării imune (IL-10 şi TGF-β) (8) ca şi în neovascularizarea tumorala (IL-15, IL-18, VEGF) (9). În acest context se presupune că aceşti factori reglatori ar putea juca un rol decisiv în răspunsul şi eşecul chimioterapiei (9).

Interleukina 7 este un factor de creştere pentru celulele T implicat în reconstituirea imună tardivă. Într-un studiu publicat în 2002 (10) s-a constat că pacienţii cu LAM netrataţi au un nivel scăzut de IL-7, în timp ce pacienţii în remisiune completă au nivele mai crescute de IL-7, aceste nivele au scăzut semnificativ în timpul aplaziei postterapeutice (10). În studiul nostru expresia receptorului pentru IL7 se corelează semnificativ cu un număr mai scăzut de leucocite la diagnostic şi cu prezenţa displaziei multiliniare.

Diferite studii au indicat că adeziunea la stroma medulară afectează supravieţuirea şi proliferarea blaştilor din LAM (11,12) şi protejează celulele LAM de acţiunea citostaticelor *in vivo* (13) şi *in vitro* (14). Moleculele de adeziune (integrine, selectine) sunt responsabile numai pentru adeziunea iniţială, tranzitorie, este însă necesară o a doua etapă stimulată de activarea receptorilor pentru chemokine pentru a transforma adeziunea reversibilă într-una fermă şi pentru migrarea direcţionată (15).

Receptorul CXCR4 este funcţional în LAM chiar dacă nivelul de expresie al acestuia la nivelul celulelor leucemice este heterogen. CXCR4 reţine progenitorii hematopoietici şi celulele leucemice în micromediul medular (16).

Un studiu recent (6) a evaluat implicarea prognostică a CXCR4 în LAM şi s-a constatat că expresia CXCR4 este un factor de prognostic independent pentru recăderea bolii şi supravieţuire. Determinarea expresiei la suprafaţa celulelor leucemice a CXCR4 determinata prin flowcitometrie poate fi încorporată în evaluarea diagnostica iniţiala a pacienţilor cu LAM. În acelaşi sens se încadrează şi rezultatele din studiul nostru în care se constată influenţa negativă a expresiei înalte a CXCR4 asupra răspunsului terapeutic.

Recent expresia CXCR4 pe celulele CD34+ de la pacienţii cu LAM a fost corelată cu mutaţia Flt-3 şi cu un prognostic nefavorabil (17), dar în studiul nostru această corelaţie nu a fost identificată.

S-a remarcat, de asemenea, în lotul nostru de pacienţi expresia intensă a receptorului pentru IL3 subunitatea alfa la nivelul blaştilor leucemici la pacienţii cu LAM forma M4. Receptorul pentru IL-3 are o structură heterodimerică (18). Expresia IL-3R a fost menţionată în alte studii la suprafaţa blaştilor leucemici (19) în leucemia acută mieloblastică. Se menţionează, de asemenea, expresia subunităţii α la nivele semnificativ mai ridicate pe blaştii leucemici în comparaţie cu progenitorii hematopoietici normali şi este semnificativ crescută pe fracţiunea de celule leucemice cu potenţial de celulă stem tumorală (20).

CONCLUZII

Studiul de faţă a vizat identicarea fenotipului complet al celulelor leucemice din leucemia acută mieloblastică la diagnostic şi a unor noi factori ce influenţează evoluţia bolii şi supravieţuirea. Prin completarea caracterizării celulelor leucemice la diagnostic cu depistarea receptorilor pentru chemokine şi citokine putem descoperi noi semnificaţii prognostice ale acestora, noi posibilităţi pentru detectarea bolii minime reziduale şi, posibil, noi ţinte terapeutice.

BIBLIOGRAFIE

1. Repp R, Schaekel U, Helm G et al. Immunophenotyping is an independent factor for risk stratification in AML. *Cytometry B Clin Cytom* 2003 ; 53 (1) : 11-19.
2. Webber BA, Cushing M, Li S. Prognostic significance of flow cytometric immunophenotyping in acute myeloid leukemia. *Int J Clin Exp Pathol* 2008 ; 1 : 124-133.
3. Al-Malwali A, Gillis D, Hissaria P. Incidence, sensitivity and specificity of leukemia-associated phenotypes in acute myeloid leukemia using specific five-color multiparameter flow cytometry *Am J Clin Pathol* 2008 ; 129 : 934-935.
4. Legrand O, Perrot J-Y, Baudard M et al. The immunophenotype of 177 adults with acute myeloid leukemia : proposal of a prognostic score, *Blood* 2000 ; 96 : 870-877.
5. Graf M, Hecht K, Reif S, Pelka-Fleischer R, Pfister K, Schmetzer H. Expression and prognostic value of hemopoietic cytokine receptors in acute myeloid leukemia (AML) : implications for future therapeutical strategies. *Eur J Haematol* 2004 ; 72 : 89-106.
6. Spoo AC, Lubbert M, Wierda WG, Burger JA. CXCR4 is a prognostic marker in acute myelogenous leukemia. *Blood* 2007 ; 109 (2) : 786-791.
7. Wu S, Geßner R, von Stackelberg A, Kirchner R, Henze G., Seeger K. Cytokine/cytokine receptor gene expression in childhood acute lymphoblastic leukemia correlation of expression and clinical outcome at first disease recurrence. *Cancer* 2005 ; 103 (5) : 1054-1063.
8. Fortunel NO, Hatzfeld A, Hatzfeld JA. Transforming growth factor-beta : pleiotropic role in the regulation of hematopoiesis. *Blood* 2000 ; 96 : 2022-2036.
9. Lotem J, Sachs L. Cytokine control of developmental programs in normal hematopoiesis and leukemia. *Oncogene* 2002 ; 21 : 3284-3294.
10. Wendelbo Ř, Glenjen N, Bruserud Ř. Interleukin-7 (IL-7) in patients receiving intensive chemotherapy for acute myelogenous leukemia : studies of systemic IL-7 Levels and IL-7 responsiveness of circulating T lymphocytes. *J Interferon Cytokine Res* 2002 ; 22 (10) : 1057-1065.
11. Scholzel C, Lowenberg B. Stimulation of proliferation and differentiation of acute myeloid leukemia cells on a bone marrow stroma in culture. *Exp Hematol* 1985 ; 13 : 664-669.
12. Bendall LJ, Daniel A, Kortlepel K, Gottlieb DJ. Bone marrow adherent layers inhibit apoptosis of acute myeloid leukemia cells. *Exp Hematol* 1994 ; 22 : 1252-1260.
13. Matsunaga T, Takemoto N, Sato T et al. Interaction between leukemic-cell VLA 4 and stromal fibronectin is a decisive factor for minimal residual disease of acute myelogenous leukemia. *Nat Med* 2003 ; 9 : 1158-1165.
14. Bendall LJ, Kortlepel K, Gottlieb DJ. Human acute myeloid leukemia cells bind to bone marrow stroma via a combination of beta-1 and beta-2 integrin mechanisms. *Blood* 1993 ; 82 : 3125-3132.
15. Campbell JJ, Hedrick J, Zlotnik A, Siani MA, Thompson DA, Butcher EC. Chemokines and the arrest of lymphocytes rolling under flow conditions. *Science* 1998 ; 279 : 381-384.
16. Monaco G, Konopleva M, Munsell M et al. Engraftment of acute myeloid leukemia in NOD/SCID mice is independent of CXCR4 and predicts poor patient survival. *Stem Cells* 2004 ; 22 : 188-201.
17. Rombouts EJ, Pavic C, Löwenberg B, Ploemacher RE. Relation between CXCR-4 expression, Flt3 mutations and unfavorable prognosis of adult acute myeloid leukemia. *Blood* 2004 ; 104 (2) : 550-557.

18. Jordan CT, Upchurch D, Szilvassy SJ et al. The interleukin-3 receptor alpha chain is a unique marker for human acute myelogenous leukemia stem cells. *Leukemia* 2000 ; 14 : 1777-1784.
19. Feuring-Buske M, Frankel AE, Alexander RL, Gerhard B, Hogge DE. A diphtheria toxin-interleukin 3 fusion protein is cytotoxic to primitive acute myeloid leukemia progenitors but spares normal progenitors. *Cancer Res* 2002 ; 62 : 1730-1736.
20. Testa U, Riccioni R, Militi S et al. Elevated expression of IL-3Ra in acute myelogenous leukemia is associated with enhanced blast proliferation, increased cellularity, and poor prognosis. *Blood* 2002 ; 100 : 2980-2988.

NOUTĂŢI

METODE CHIRURGICALE MINIM INVAZIVE ŞI DERIVAŢI DIN MATRICEA SMALŢULUI ÎN TERAPIA PARODONTITELOR AGRESIVE LOCALIZATE

Parodontitele agresive localizate reprezintă o entitate distinctă în cadrul afecţiunilor parodontale şi se caracterizează prin defecte osoase verticale profunde care afectează molarii primi şi incisivii pacienţilor tineri. Terapia are ca scop reducerea microflorei patogene prin detartraj şi planare radiculară şi administrarea de antibiotice pe cale sistemică. Terapia chirurgicală parodontală combinată cu derivaţi din matricea smalţului au fost introduse ca metode de regenerare a ţesuturilor parodontale afectate şi au fost studiate în special în tratamentul parodontitelor marginale cronice. În cadrul unei prezentări de caz, realizată de un grup de cercetători germani, este descrisă terapia aplicată în cazul unui pacient de 27 ani, diagnosticat cu parodontită agresivă localizată. După terapia iniţială, ce a constat în detartraj, planare radiculară, administrare sistemică de amoxicilină şi metronidazol, defectele verticale au fost tratate prin metode chirurgicale minim invazive în asociere cu aplicarea de derivaţi din matricea smalţului. Datele clinice, microbiologice şi radiografice, raportate la 1,5 ani după terapia iniţială, au indicat o bună eficienţă a strategiei terapeutice şi o stabilitate a rezultatelor obţinute. (Kaner D, Bernimoulin JP, Kleber BM, Friedmann A. Minimally invasive flap surgery and enamel matrix derivative in the treatment of localized aggressive periodontitis : case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2009 ; 29 (1) : 89-97).

Irina Grădinaru

ALBUMINURIA - UN FACTOR PREDICTIV INDEPENDENT PENTRU DIABETUL DE TIP 2 LA SEXUL MASCULIN

Un studiu de cohortă prospectiv (The DESIR Study) a inclus 4074 de subiecţi, cu vârsta cuprinsă între 30 şi 64 de ani, fără diabet la includerea în studiu. După o supraveghere de 9 ani, 1 caz de diabet a apărut la 171 de subiecţi (132/2056 la sexul masculin şi 39/1795 la sexul feminin) din cei 3851 de pacienţi care au fost evaluaţi pe tot parcursul studiului. Albuminuria a fost asociată cu diabetul într-o relaţie de tip doză-dependentă,doar la pacienţii de sex masculin, riscul relativ (RR) fiind cuprins între 1,81 şi 4,43 în funcţie de valorile albuminuriei (în mg/l), după ajustarea pentru indicele de masă corporală, activităţi sportive, fumat, circumferinţă abdominală, insulinorezistenţă, profil lipidic şi antecedente familiale pentru diabet. Prin excluderea subiecţilor cu tulburări bazale de glicoreglare RR a crescut, fiind cuprins între 3,28 şi 9,23. În concluzie, existenţa unei albuminurii crescute pare a avea valoare predictivă pentru riscul de diabet de tip 2, la sexul masculin, independent de anomaliile biologice bazale, sau de existenţa unei insulinorezistenţe. (Halimi JM et al. Urinary albumin excretion is a risk factor for diabetes mellitus in men, independently of initial metabolic profile and development of insulin resistance. The DESIR Study. *J Hypertens* 2009 ; 2 : 98-106).

Al.D. Ciochină

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

USING MLPA FOR LARGE GENOMIC REARRANGEMENTS DETECTION IN BREAST CANCER PREDISPOSITION GENES

L. Negură[1], E. Carasevici[1], V. Artenie[2], Anca Negură[2]
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
School of Medicine
1. Department of Immunology
"Al.I. Cuza" University Iaşi
2. Biochemistry and Molecular Biology Laboratory

USING MLPA FOR LARGE GENOMIC REARRANGEMENTS DETECTION IN BREAST CANCER PREDISPOSITION GENES (Abstract): Breast and ovarian cancer are common pathologies in women, with increasing incidences worldwide. In hereditary breast and ovarian cancer (HBOC) families, a large percentage of cases are attributable to hereditary factors compatibles with dominant autosomal transmission of a major tumour suppressor gene with incomplete penetrance. Screening for BRCA1 mutations is now standard practice for HBOC cases in western world, and permits medical follow-up and genetic counselling. Over 300 BRCA1 germinal mutations are stored in the Breast Cancer Information Core (BIC) mutation database. **Material and methods**: Estimates in different countries range from 5 to 15% the BRCA1 related cases of hereditary breast cancer due to copy number changes of one or more exons of this gene. Exon deletions and amplifications will usually not be detected by sequence analysis of the complete BRCA1 gene, therefore MLPA screening is needed. **Results**: Here we describe Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification technique (MLPA) implementation for BRCA1 large genomic rearrangements. **Conclusions**: We did not detect any BRCA1 mutation by analysis of 15 HBOC recruited patients. **Key words**: BREAST/OVARIAN CANCER, HEREDITARY PREDISPOSITION, LARGE GENE REARRANGEMENTS, MLPA

Breast and ovarian cancer are very common pathologies in women, with increasing incidences worldwide including Romania (1,2,3). In hereditary breast and ovarian cancer (HBOC) families, a large percentage of cases are attributable to hereditary factors compatibles with dominant autosomal transmission of a major tumour suppressor gene with incomplete penetrance (4). Germinal mutations in BRCA1 gene are responsible for about 45% of families with increased incidence of breast cancer and of over 80% of families with significantly increased incidence of both early-onset breast and ovarian cancer (1). Screening for mutations in these two genes is now standard practice for HBOC cases in Western Europe and North America, and permits medical follow-up and genetic counselling adapted to the needs of individuals in such families. The consequences of germ-line mutation of either of the BRCA genes are serious: by 50 years of age, 45% of BRCA1 carriers and 20% of BRCA2 carriers will have already developed breast cancer, compared to about 3% of non-carriers (5). Over 300 BRCA1 and 200 in BRCA2 germinal inactivating mutations were found, most of them causing the lost of function by premature protein synthesis termination (6).

Homologous recombination between repetitive DNA sequences is esteemed to be the major cause of genetic instability generating deletions, duplications or rearrangements. The high density of Alu (42%) type repetitive sequences within BRCA1 gene, or of Alu (20%) and non-Alu (27%) repetitive sequences for BRCA2 gene, support hypothesis that those two genes could be susceptible to inactivation by homologous recombination (5). In the Netherlands, for example, more than 30 % of the BRCA1 related cases of hereditary breast cancer are due to copy number changes of one or more exons of this gene (7). The majority of these are due to two frequently occurring founder mutations: deletion of exon 13 or exon 22. Estimates in other countries are lower and range from 5 to 15 % (8). A wide variety of different exon deletions and duplications have been described (9). Exon deletions and amplifications will usually not be detected by sequence analysis of the complete BRCA1 gene. Known deletions and amplifications can be easily tested by PCR, but the number of different deletions is becoming prohibitively large. Analysis by MLPA is an easy to perform alternative that is also capable of detecting new deletions and amplifications, even when those large rearrangements represent 5% or less of BRCA1 inactivating mutations; in fact, MLPA targeted breast cancer susceptibility only within the last decade, in order to complete classical point mutations detection tests.

MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) is a multiplex PCR method detecting abnormal copy numbers of up to 50 different genomic DNA or RNA sequences, which is able to distinguish sequences differing in only one nucleotide (10). The MLPA technique is easy to use and can be performed in many laboratories, as it only requires a thermocycler and capillary electrophoresis equipment. Up to 96 samples can be handled simultaneously, with results being available within 24 hours. Using MLPA for copy number detection offers many advantages over other techniques. First of all, methods which were primarily developed for detecting point mutations, such as sequencing and DHPLC, generally fail to detect copy numbers changes. Southern blot analysis, on the other hand, will reveal many aberrations but will not always detect small deletions and is not ideal as a routine technique. Although well-characterised deletions and amplifications can be detected by PCR, the exact breakpoint site of most deletions is unknown. Furthermore, when comparing MLPA to FISH, MLPA not only has the advantage of being a multiplex technique, but also one in which very small (50-70 nt) sequences are targeted, enabling MLPA to identify the frequent, single gene aberrations which are too small to be detected by FISH. Moreover, MLPA can be used on purified DNA. Finally, as compared to array CGH, MLPA is a low cost and technically uncomplicated method. Although MLPA is not suitable for genome-wide research screening, it is a good alternative to array-based techniques for many routine applications.

The SALSA® MLPA® kit P002-C1 BRCA1 from MRC-Holland™ is designed to detect deletions/duplications of one or more sequences in the BRCA1 gene in a DNA sample. Heterozygous deletions of recognition sequences should give a 35-50% reduced relative peak area of the amplification product of that probe. Note that a mutation or polymorphism in the sequence detected by a probe can also cause a reduction in relative peak area, even when not locate exactly on the ligation site! In addition, some probe signals are more sensitive to sample purity and small changes in experimental conditions. Therefore, deletions and duplications detected by MLPA should always be confirmed by other methods. Not all deletions and duplications detected by MLPA will be pathogenic; users should always verify the latest scientific literature when interpreting their findings. Finally, note that most defects in this gene are expected to be small mutations which will not be detected by this MLPA test.

MATERIAL AND METHODS

HBOC families were recruited when three or more breast or ovarian cancer cases were diagnosed within the same family line. Situations with less then three cases were considered for cancer cases were diagnosed before age 40, for breast and ovarian cases in the same family, for breast cancers in men, for bilateral breast cancer cases and for any medullar breast cancer. All patients agreed by written informed consent. Familial anamneses were drawn and recruited patients were included on a BRCA study list.

Genomic DNA was extracted from 10 mL peripheral blood by optimization of the Wizard™ Genomic DNA purification kit (Promega Inc, Madison, WI, USA). Two samples of 5 mL were processed in parallel, and DNA was eluted in 1 mL TE Buffer. After appropriate dilutions in 50 µL, DNA amount was estimated by spectrophotometry, using the DU800 spectrophotometer (Beckman Coulter Inc, Fullerton, CA, USA).

BRCA1 was also screened for large deletions and duplications by MLPA, using the SALSA® MLPA® Kit P002-B1 (MRC-Holland™, Amsterdam, the Netherlands). PCR was performed alternatively on thermocyclers as Mastercycler™ Gradient (Eppendorf AG, Hamburg, Germany) or PalmCycler™ (Corbett LifeSciences / Qiagen, Germantown, MD, USA). Capillary electrophoresis was performed on a CEQ8000 Genetic Analyser (Beckman Coulter Inc, Fullerton, CA, USA). Data was analysed with the CEQ8000 Fragment Analysis software and normalized with the Coffalyser® v9.4 (MRC-Holland, Amsterdam, the Netherlands).

RESULTS AND DISCUSSION

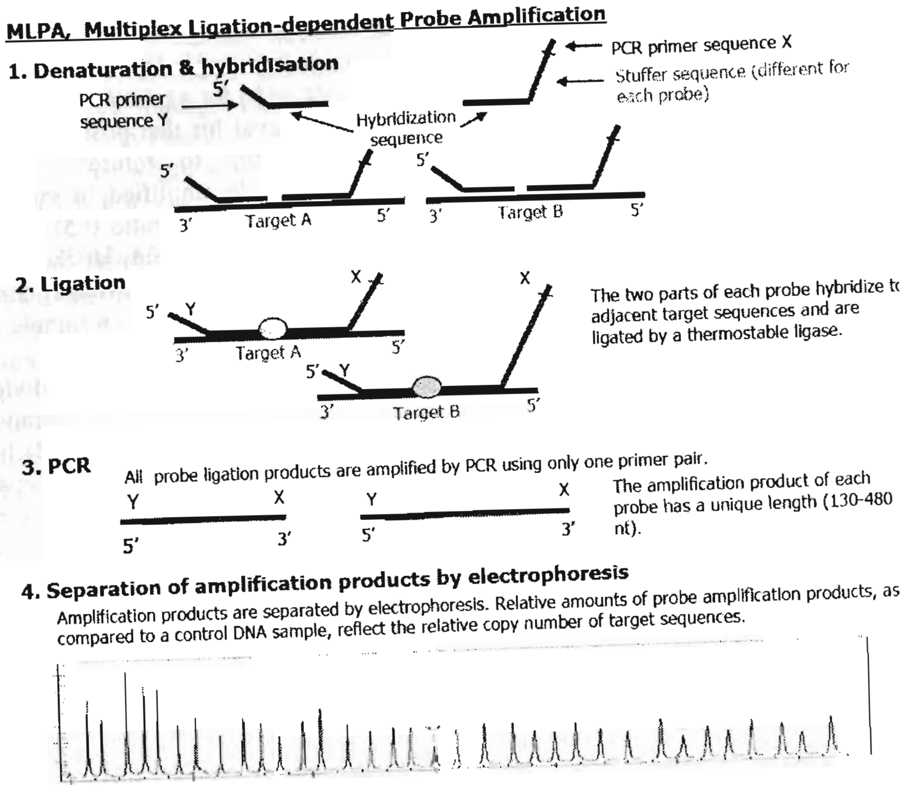
Principle of MLPA method

Within all mutations detection methods, the most accurate and precise is the full gene sequencing. Although longer and most expensive, DNA sequencing is sensitive enough to detect point heterozygous or homozygous mutations. Notwithstanding its precision, DNA sequencing cannot cover all mutation spectrum. Sequencing depends on amplification of the region of interest, and this amplification uses both alleles of an individual. In homozygous individuals one only sequence is detected (alleles are identical), whereas in heterozygous two different sequences are read. DNA sequencing is inefficient to detect those mutations (deletions, insertions, duplications, inversions) affecting large genomic DNA regions (at kilobases level), because in this case the region of interest is lacking for one allele and will not be amplified. The other wild-type allele will be amplified and sequenced, generating a general wild-type signal. In this context, large mutations can be hidden by sequencing of normal allele, and mutated patients (there are not BRCA homozygous mutants) can be diagnosed as normal. For this reason, information concerning large genomic rearrangements should always precede and complete DNA sequencing.

MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) is a multiplex-PCR based technique aiming the detection of copy number abnormalities and being able to detect sequences at a one nucleotide variation level (5). As a variant of a PCR reaction, MLPA permits amplification of several target regions using one unique universal primer pair. MLPA exists nowadays in over 50 variants designed for different syndromes or genetic aberrations. Typical for MLPA is that it is not target sequences that are amplified, but MLPA probes that hybridise to the target sequence. In contrast to a standard multiplex PCR, a single pair PCR primers is used for MLPA amplification. The resulting amplification products of a MLPA kit range between 130 and 480 nt in length and can be analysed by capillary electrophoresis. Comparing the peak pattern obtained to that of reference samples indicates which sequences show aberrant copy numbers.

The concept of MLPA lay on probes that are used, and that are conceived each one to hybridize a specific region of the gene. Each probe consists of a two synthesis oligonucleotides which recognise adjacent target sites on the DNA. Beside sequencer complementary to target DNA, probes also contain complementary sequences to primers. One probe oligonucleotide contains 5' the sequence recognised by the forward primer, the other one containing 5' the sequence recognised by the reverse primer. The 3' ends of the probes are complementary to target DNA, being adjacent one to another. Only when both probe oligonucleotides are hybridised to their respective targets, can they be ligated into a complete probe. Hence, amplification depends on adjacent hybridization of both probes, therefore on integrity of targeted sequence. The advantage of splitting the probe into two parts is that only the ligated oligonucleotides, but not the unbound probe oligonucleotides, are amplified. Each complete probe has a unique length, so that its resulting amplicons can be separated and identified by (capillary) electrophoresis. This avoids the resolution limitations of multiplex-PCR. Since the forward primer used for probe amplification is fluorescently labelled, each amplicon generates a fluorescent peak which can be detected by a capillary sequencer. Comparing the peak pattern obtained on a given sample with that obtained on various reference samples, the relative quantity of each amplicon can be determined. This ratio is a measure for the ratio in which the target sequence is present in the sample DNA. For instance, if one allele lacks for a precise DNA position, amplicon signal for that position will be at half comparing to reference amplicon signal (on allele amplified in sample, two alleles in reference – ratio 0.5). Inversely, duplications or polyploidy of the region of interest will generate a stronger amplicon signal in sample (3 alleles in sample an two alleles in reference – ratio 1.5).

The MLPA reaction can be divided in five major steps: 1) DNA denaturation and hybridisation of MLPA probes; 2) ligation reaction; 3) PCR reaction; 4) separation of amplification products by electrophoresis; and 5) data analysis (fig. 1). During the first step, the DNA is denatured and incubated overnight with a mixture of MLPA probes. MLPA probes consist of two separate oligonucleotides, each containing one of the PCR primer sequences. The two probe oligonucleotides hybridise to immediately adjacent target sequences (fig. 1 - step 1). Only when the two probe oligonucleotides are both hybridised to their adjacent targets can they be ligated during the ligation reaction (fig. 1 - step 2). Because only ligated probes will be exponentially amplified during the subsequent PCR reaction (fig. 1 - step 3), the number of probe ligation products is a measure for the number of target sequences in the sample. The amplification products are separated using capillary electrophoresis (fig. 1 - step 4). Probe oligonucleotides that are not ligated only contain one primer sequence. As a consequence, they cannot be amplified exponentially and will not generate a signal. The removal of unbound probes is therefore unnecessary in MLPA and makes the MLPA method easy to perform. Yet, we have to mention that some of the signals generated by probes are more sensitive than others to sample purety and to small variations in working conditions. For this reason,


MLPA, Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification
1. Denaturation & hybridisation
PCR primer sequence Y
5'
Hybridization sequence
PCR primer sequence X
Stuffer sequence (different for each probe)
3'
Target A
5'
Target B
2. Ligation
X
Y
The two parts of each probe hybridize t
adjacent target sequences and are
ligated by a thermostable ligase.
3. PCR
All probe ligation products are amplified by PCR using only one primer pair.
The amplification product of each probe has a unique length (130-480 nt).
4. Separation of amplification products by electrophoresis
Amplification products are separated by electrophoresis. Relative amounts of probe amplification products, as compared to a control DNA sample, reflect the relative copy number of target sequences.

Schouten, J.P. et al. Nucl. Acid Res. 30, e57.

Fig. 1. The four steps necessary to perform a MLPA complete analysis (10)

deletions or duplications detected by MLPA should systematically be confirmed by other methods. Besides, not all BRCA1 duplications and deletions are pathogenic. Nonetheless, the majority of BRCA1 defects are single or few nucleotides levelled, being undetectable by MLPA, which is only a prescreening preceding complete gene sequencing.

The SALSA® MLPA® P002-C1 BRCA1 kit probemix contains 35 MLPA probes targeted to all BRCA1 exons, with amplification products between 127 and 463 nt. In addition, it contains 9 control fragments generating an amplification product smaller than 120 nt: four DNA Quantity fragments (Q-fragments) at 64-70-76-82 nt, three DNA denaturation control fragments (Dfragments) at 88-92-96 nt, one X-fragment at 100 nt and one Y-fragment at 105 nt. As laboratory equipment, MLPA requires a heated lid thermocycler and a capillary electrophoresis machine. In theory, 96 samples (including references and controls) can be processed simultaneously, in 0.2 mL PCR tubes or directy in 96 wells PCR plates. The Beckman Coulter CEQ8000 Genetic Analyser that we use has 8 capillaries and can therefore process 8 samples in a row. It requires a Cy-5 fluorescence of the forward universal primer.

Up to the capillary electrophoresis stage, all steps can be performed in a single thermocycler, with the following PCR program covering all MLPA (tab. I).

Interpretation of MLPA results

Raw data of capillary electrophoresis are taken up and analyzed in the first by the

---

particles for ocular drug delivery is that it is in a liquid dosage form which can be easily administered by patients (19, 20). Another significant challenge is to deliver therapeutic doses of drugs to treat diseases affecting the posterior segment of the eye. It is difficult to deliver drugs to the posterior segment by topical application because of the diffusional distance and the counter-directional intraocular convection from the ciliary body to Schlemm's canal. The most logical way is to deliver drugs by intraocular injections thus bypassing anatomical and physiological barriers. However, drugs of short half-lives (e.g., antibiotics, antiviral drugs) would require repeated injections, which could increase the risk of retinal detachment or bleeding. Therefore, biodegradable nanoparticles were developed for intraocular administration in order to obtain a controlled, sustained drug release and thus reducing the number of injections required (21).

The choice of the polymer for preparing particulate systems will depend on the physicochemical properties of the drug. The goal is to perform high drug loading in order to minimize the required volume to be instilled into the eye. Corneal uptake and transport of nanoparticles should be facilitated by small particle size (100–200 nm) (22). Drug-release kinetics are synchronized by the composition and preparation procedure of the particles, the molecular weight and degradation of the polymers, and the physicochemical properties of the entrapped drug molecule.

It is important to note that the particle size for ophthalmic applications should not exceed 10 pm because with larger sizes a scratching feeling might occur. Therefore, a reduction in particle size improves the patient comfort during administration (23).

NANOPARTICLES AND BLOOD BRAIN BARRIER

Blood - brain barrier (BBB) is one of the principal barriers usually not easy to break in for drugs such as anticancer agents, antibiotics, peptides, oligo-molecules, and macromolecules. The inaccessibility of drug to the brain tissues is attributed to the presence of "tight junctions between the endothelial cell linings in the brain blood vessels" (24). Further, any drug across the endothelial lining is transported back into the blood stream by means of ABC transporters which are referred to as the "very active drug transport system." Thus, cranial drug delivery seems to be a major challenge in the medical world.

The transcytotic vesicular mechanism enables the transport of large molecules, while "specific transport systems for solute uptake are present on apical and basal membranes" but the efflux transporters of broader specificity are also present. Efflux transporters do so with lipid-soluble drugs making them unreachable from the central nervous system. The dynamic of brain interstitial fluid (ISF) and the disease-caused BBB dysfunction contribute to the complication of choosing a therapy. After all considerations, the drug vehicle interacts with the abovementioned barriers at various point of time.

Nanoparticles provide to be an attractive solution to the BBB issue. Nanoparticles of smaller size when functionalized or suitably surface modified, mimicking low-density lipoproteins, bind to their specific receptors and diffuse into the endothelial cells ultimately reaching the interior of brain (25). Hence the size and surface modification/functionalization allow the transport of nanodelivery vehicles across the BBB. However, the possibility of unintended intrusion via BBB into the brain is widely speculated; thus there must be high selectivity with regard to any uptake via BBB to avoid the unwanted particles.

One of the successful establishments of drug delivery to brain includes the delivery of nanoparticles coated by polysorbate 80. Nanoparticles of drug vehicles coated with polysorbate 80 showed better uptake across BBB. A notable instance was, during delivery of doxorubicin where the drug level in brain was in the ratio of 60 : 1 for the polysorbate-coated delivery versus the non-coated respectively (24).

With regard to nano drug delivery the possibility of delivery vehicles crossing the BBB can be reasoned to an improved retention of the nanoparticles in the brain capillaries along with adsorption to the capillary walls could cause high concentration gradient facilitating the transport across the endothelial cells and ultimate delivery to the brain, "a general surfactant effect characterized by a solubilization of the endothelial cell membrane lipids that would lead to membrane fluidization and an enhanced drug permeability through the blood–brain barrier" (25), nanoparticles reaching the openings in tight junctions between endothelial cells could permeate either in free form or in bound form together with the nanoparticles, endocytosed NP releasing drug within the cells and delivered into brain, nano vehicles could be transcytosed through endothelial cells into brain, polysorbate 80 coating on nano vehicles could inhibit the efflux system. As mentioned earlier the NP delivery vehicle confronts the above-mentioned mechanism individually or collectively, hence the reason for a nano vehicle entering the brain could be attributed to one of these mechanisms or a combination of them.

TRANSDERMAL DRUG DELIVERY

Experimental researches over years have been exploring the possibility and extent of realization of transdermal drug delivery. The first successful model of transdermal delivery was a scopolamine patch created in 1979. There have been earlier studies on the barriers to a transdermal delivery dating back to as early as 1924. In the United States, annual expenditure in drug delivery in more than 3 billions USD, such a high profile industry namely health care is not driven for mere disease and injury therapies but also for novel applications such an nicotine delivery. The consequences of delivery nicotine by patches through skin have led to creation of more than one million smokers who were otherwise (26).

The major challenges faced in the transdermal application are the possibility of an efficient and easy delivery of drug through skin's major barrier such as stratum corneum (SC), the epidermis etc. Of the two mentioned, SC is the major challenge. The stratum corneum is 10–15 μm thick, while epidermis is 50–100 μm thick and the dermis layer is about 2–3 mm thick. Usually, a drug/vehicle for a transdermal delivery cannot easily pass through the SC.

Nanotechnology plays a promising role in transdermal applications. The smaller size enables easy permeation. Further, surface modifications facilitate targeted delivery. The present day research explores the use of certain external agencies in combination with nano vehicles for delivery. Notable among them are chemical enhancement, electricity assisted electropermeabilization, low frequency ultrasound, pressure waves (PW) mediated, and micro needles.

In order to deliver drugs at therapeutic useful rates, micro needles which are in the size of a micron dimensions were designed capable of delivering drugs when poked into the skin. Drugs made of nanoparticles can efficiently be delivered directly into the epidermis via this method. Needles of different sizes, shapes, and materials namely stainless steel, titanium, and silicon wafers are available. These needles usually have a small radius tip with thick walls which have lesser probability of fracture when using. To further improve this, micro needle arrays were designed which would have about 480 needles of each 430 μm long within a 2 sq. cm. area. Although this method could not be considered in case of skin burns and injuries, it is promising otherwise (27).

The application of PW facilitates temporary poration in the SC and allows the drugs/vehicles to easily pass through. Moreover it is simple, efficient, and has immediate recovery with regard to SC functionality by resuming to its normal character of being a high barrier (28). The duration of exposure to PW is a crucial factor as it is directly proportional to the permeation through SC. The successful establishment of delivering 100 nm latex beads shows promising future for the delivery of DNA plasmids and proteins into the epidermis.

Pressure waves generated from intense laser radiation applied on skin for transdermal drug delivery are gaining interest. It has been substantiated to show better permeation of drug vehicles across the stratum corneum (SC) and cell membrane, and ease of the very process of delivery. A typical PW for the transdermal delivery would be of several hundred bars, a PW of 300–1000 bar for a period of 100 ns to 1 μm ; here insulin was delivered to control blood glucose level . The damages that might be caused due to PW are minimal and can be reduced by appropriate design of PWs (29).

Instead of having a traditional approach, even targeting the sweat glands and hair follicle being explored which show a sooner and better delivery when compared to overall skin flux (30), they work as shunt routes.

Other transdermal applications include dendrimers which are extensively used to deliver drugs, vaccines, and chemotherapeutic agents for cancer therapy . Some of the dendrimerbased bionano applications include gene delivery, targeted cancer therapy, *in vivo* diagnoses (MRI), antiinfective agent delivery, vaccine and peptide delivery and drug delivery through oral and transdermal routes and ocular applications (31).

DRUG DELIVERY SYSTEMS FOR THE TEMPOROMANDIBULAR JOINT

Temporomandibular joint (TMJ) disorders are the main cause of chronic facial pain and a major cause of disability. Unlike other degenerative joint diseases, which are more common in the elderly, TMJ disorders affect up to one-third of adolescents and young adults. The chronic pain associated with progressive TMJ degeneration limits talking, chewing, and other basic daily activities. Current treatments for TMJ disorders are limited. In severe cases, both effective pain reduction and restoration of TMJ function remain an unmet challenge (32).

One main type of TMJ disorder is an osteoarthritis-like degenerative joint disease characterized by progressive bone and cartilage destruction and subsequent inflammation, which exacerbates joint tissue catabolism (33). Consequently, pharmacologic approaches to TMJ disorders have paralleled those for symptomatic treatment of osteoarthritis, including non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and intra-articular injections of either steroids or hyaluronic acid into the superior joint space. However, use of these agents remains controversial in light of decades of mixed reports of intra-articular injections either accelerating TMJ destruction or triggering regeneration (34). As in the case of osteoarthritis, no agents are available to reverse the underlying TMJ disease.

Consequently, current pain reduction techniques are effective in the early stages of the disease, but fail to alleviate the severe, chronic pain caused by advanced joint degeneration (35). There is a need for sustained release agents that effectively reduce pain and have minimal systemic side effects, enabling longterm administration without the disastrous ectopic effects seen with NSAIDs like rofecoxib (36).

Advances in the field of drug delivery will improve pain management and also aid progress in the emerging field of TMJ regeneration. The standard treatment for severe TMJ degeneration is currently surgical joint replacement. Research in TMJ repair and regeneration has proceeded at a cautious pace following the experience with early alloplastic TMJ implants, whose tendency for premature failure triggered immune reactions resulting in catastrophic joint damage (37). Although improved products are currently available for total joint replacement, even these have a limited lifetime. The potential need for serial surgeries to replace worn out prostheses has raised concerns, since numerous clinical studies have indicated that serial TMJ surgeries often result in joint mutilation (38).

Drug delivery systems can be used to either modify the joint environment prior to implantation, or to deliver pro-regenerative signals in a spatially and temporally controlled fashion, so as to trigger joint healing while avoiding systemic drug release, ectopic effects, and other such complications. The limitations of current therapeutic strategies for TMJ disorders have led to increased interest in tissue engineering strategies, which combine cells, bioactive factors, and implantable scaffolds to trigger joint regeneration (39). However, TMJ tissue engineering remains a small and emerging field. Research to date has focused on separately engineering the fibrocartilagenous TMJ disc and mandibular condyle, with few preclinical or in vivo studies.

Since joint tissue, particularly the fibrocartilagenous disc, has very limited healing capacity, TMJ tissue engineering strategies must deliver key growth factors and other molecular signals that induce joint regeneration. Development of systems for controlled release of these factors will be critical to the success of TMJ regeneration (40). Tissue engineered products may never work properly unless researchers identify and find a means to control the underlying joint degeneration. The emerging intra-articular drug delivery systems described in this paper have the potential to both treat pain associated with TMJ disorders and deliver growth factors and other signals to control the underlying joint degeneration.

NANOPARTICLES FOR DENTAL RESTORATIVES

At present many investigations are being carried out to improve the properties of composite materials, such as abrasion resistance, rheology, or mechanical properties. For instance, *in situ* formed layered silicate nanofillers increase the strength and toughness of acrylic nanocomposites (41). The literature describes organopolysiloxane particles of 5–200 nm of diameter, among others, as compact modifiers for dental materials (42). Because of the low interaction between these particles, the load of the corresponding composite could be increased, resulting in reduced polymerization shrinkage.

Most dental composites contain particulate fillers. Composites are reinforced by incorporating fibers or whiskers, in particular. However, fiber reinforced dental filling composites are rarely described in the literature. The gradual addition of silanized short-cut glass fibers to a Bis-GMA/TEGDMA based composite resulted in an increase in the elastic modulus and a decrease in the tensile strength. Xu et al. (43) used ceramic single-crystalline whiskers as fillers to reinforce composites.

The filler mass fraction ranged from 0 to 70%. Compared with microfill and hybrid composites, the whisker reinforced material showed significantly higher flexural strength values. Whiskers exhibit some potential for being used to reinforce composite filling materials; however, at least the whiskers described in Xu et al. are not that easy

accessible. Recently, nanoparticles, such as tantalum oxide (44) or zirconium oxide have been incorporated into dental composites to reinforce them, to improve their radiopacity, or to produce transparent materials (45). In the case of nonsilicate filler, surface modification with methacrylate silanes is less efficient. Tantalum oxide or zirconium oxide nanoparticles were therefore surface functionalized with phosphate methacrylates, zirconates, or aluminozirconates (46).

Nanoparticles have the tendency to agglomerate. In this case, the refractive index of the particles has to be adjusted to the refractive index of the polymer matrix to obtain translucent materials. By means of the sol-gel process, mixed oxide particles can be prepared that have a refractive index that depends on the ratio of the different metal ions used.

CONCLUSIONS

In the last decade the development of micro- and nanoparticles in the clinical application has increased due to their potential for better diagnostic procedures and/or treatment modalities. Controlled drug delivery represents a frontier area of science, involving a multi-disciplinary approach with the aim of improving patient health care. A local controlled delivery system has the advantage that toxic side effects associated with systemic drug application can be drastically reduced or largely avoided. Nanoparticles coupled with biological active substances have expanded a variety of biomedical applications.

REFERENCES

1. Allen T, Cullis P. Drug delivery systems : entering the mainstream. *Science* 2004 ; 303 : 1818–1822.
2. Taton TA. Nanostructures as tailored biological probes. *Trends Biotechnol* 2002 ; 20 : 277-279.
3. Whitesides GM. The 'right' size in nanobiotechnology. *Nature Biotechnology* 2003, 21 : 1161-1165.
4. Haruma K. Functional polymer microspheres. *Prog Polym Sci* 2000 ; 25 : 1171-1210.
5. Sahoo SK, Ma W, Labhasetwar V. Efficacy of transferring conjugated paclitaxel loaded nanoparticles in a murine model of prostate cancer. *Int J Cancer* 2004 ; 112 : 335-340.
6. Fifis T, Gamvrellis A, Crimeen-Irwin B et al. Size dependent immunogenicity : therapeutic and protective properties of nano vaccines against tumors. *J Immunol* 2004 ; 173 : 3148-3154.
7. Chen JH, Wang L, Ling R et al. Body distribution of nanoparticles containing adriamycin injected into the hepatic artery of hepatoma bearing mice. *Dig Dis Sci* 2004 ; 49 : 1170-1173.
8. O'Neal DP, Hirsch LR, Halas NJ, Payne JD, West JL. Photo thermal tumor ablation in mice using near infra red absorbing nanoparticles. *Cancer Lett* 2004 ; 209 (2) : 171-176.
9. Santhakumaran LM, Thomas T, Thomas TJ. Enhanced cellular uptake of a triplex- forming oligonucleotides by nanoparticles formation in the presence of polypropylenimine dendrimers. *Nucleic Acid Res* 2004 ; 32 (7) : 2102-2112.
10. Kumar CS, Leuschner C, Doomes EE, Henry L, Juban M, Hormes J. Efficacy of lytic peptide bound magnetite nanoparticles in destroying breast cancer cells. *J Nanosci Nanotechno* 2004 ; 4 (3) : 245-249.
11. Roy I, Ohulchanskyy TY, Pudavar HE, et al. Ceramic based nanoparticles entrapping water soluble photosensitizing anticancer drugs a novel drug carrier system for photodynamic therapy. *J Am Chem Soc* 2003 ; 125 (26) : 7860-7865.
12. Chawla JS, Amiji MM. Cellular uptake and concentrations of tamoxifen upon administration in poly(ε-caprolactone) nanoparticles. *AAPS Pharm Sci* 2003 ; 5 (1) : 28-34.
13. Chawla JS, Amiji MM. Biodegradable poly(ε-caprolactone) nanoparticles for tumor targeted delivery of Tamoxifen. *Int J Pharm* 2005 ; 249 : 127-138.
14. Yoo HS, Park TG. Folate receptor targeted delivery of Doxorubicin nano aggregates stabilized by Doxorubicin PEG-folate conjugate. *J Control Release* 2004 ; 100 : 247-256.

15. Kang BK, Chon SK, Kim SH et al. Controlled release of paclitaxel from microemulsion containing PLGA and evaluation of anti tumor activity in vitro and in vivo. *Int J Pharm* 2004 ; 286 : 147-153.
16. Lee VHL, Robinson JR. Review : topical ocular drug delivery : recent developments and future challenges. *J Ocul Pharmacol* 1986, 2 (1) : 67-108.
17. Salminen L. Review : systemic absorption of topically applied ocular drugs in humans. *J Ocul Pharmacol* 1990 ; 6 (3) : 243-249.
18. LeBourlais C et al. Ophthalmic drug delivery systems—recent advances. *Prog Retinal Eye Res* 1998 ; 17 (1) : 33-58.
19. Zimmer A, Kreuter J. Microspheres and nanoparticles used in ocular delivery systems. *Adv Drug Deliv Rev* 1995 ; 16 (1) : 61-73.
20. Alonso MJ, Sanchez A. The potential of chitosan in ocular drug delivery. *J Pharm Pharmacol* 2003 ; 55 (11) : 1451-1463.
21. Yasukawa T et al. Drug delivery systems for vitreoretinal diseases. *Progr Retin Eye Res* 2004 ; 23 (3) : 253-281.
22. Rabinovich-Guilatt L et al. Cationic vectors in ocular drug delivery. *J Drug Targeting* 2004 ; 12 (9-10) : 623-633.
23. Kreuter J. Evaluation of nanoparticles as drug delivery systems I : Preparation methods. *Pharm Acta Helv* 1983 ; 58 : 196-209.
24. Kreuter J. Application of nanoparticles for the delivery of drugs to the brain. *Int Congress Series* 2005 ; 1277 : 85-94.
25. Abbott NJ. Physiology of the blood-brain barrier and its consequences for drug transport to the brain. *Int Congress Series* 2005 ; 1277 : 3-18.
26. Hoet PHM, Brueske-Hohlfeld I, Salata OV. Nanoparticles-known and unknown health risks. *J Nanobiotechnol* 2004 ; 2 (1) : 12–17.
27. Langer R. Transdermal drug delivery : past progress, current status, and future prospects. *Adv Drug Deliv Rev* 2004 ; 56 (5) : 557-558.
28. Prausnitz MR. Microneedles for transdermal drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 2004 ; 56 (5) : 581-587.
29. Doukas AG, Kollias N. Transdermal drug delivery with a pressure wave. *Adv Drug Deliv Rev* 2004 ; 56 (5) : 559-579.
30. Barry BW. Drug delivery routes in skin : a novel approach. *Adv Drug Deliv Rev* 2002 ; 54 : 31-40.
31. Duncan R, Izzo L. Dendrimer biocompatibility and toxicity. *Adv Drug Deliv Rev* 2005 ; 57 (15) : 2215-2237.
32. Detamore MS, Athanasiou KA, Mao J. A call to action for bioengineers and dental professionals : directives for the future of TMJ bioengineering. *Ann Biomed Eng* 2007 ; 35 : 1301-1311.
33. Tanaka E, Detamore MS, Mercuri LG. Degenerative disorders of the temporomandibular joint : etiology, diagnosis, and treatment. *J Dent Res* 2008 ; 87 : 296-307.
34. Dionne RA. Pharmacologic treatments for temporomandibular disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1997 ; 83 : 134-142.
35. Gerwin N, Hops C, Lucke A. Intraarticular drug delivery in osteoarthritis. *Adv Drug Deliv Rev* 2006 ; 58 : 226-242.
36. Bennett JS, Daugherty A, Herrington D, Greenland P, Roberts H, Taubert KA. The use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). *Circulation* 2005 ; 111 : 1713-1716.
37. Dimitroulis G. The role of surgery in the management of disorders of the temporomandibular joint : a critical review of the literature. Part 1. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2005 ; 34 : 107-113.
38. Mercuri LG, Giobbie-Hurder A. Long-term outcomes after total alloplastic temporomandibular joint reconstruction following exposure to failed materials. *J Oral Maxillofac Surg* 2004 ; 62 : 1088 - 1096.
39. Detamore MS, Athanasiou KA. Motivation, characterization and strategy for tissue engineering the temporomandibular joint disc. *Tissue Eng* 2003 ; 9 : 1065-1087.
40. Moioli EK, Clark PA, Xin X, Lal S, Mao JJ. Matrices and scaffolds for drug delivery in dental, oral and craniofacial tissue engineering. *Adv Drug Deliv Rev* 2007 ; 59 : 308-324.
41. Muelhaupt R, Dietsche F, Doell W, Thomann R. Acrylic nanocomposites containing organoclay nanofillers : Morphology development, properties, and fracture behaviour. 219th American Chemical Society National Meeting, 2000, 26-30.

42. Ebenhoch J, Kreis G, Hierstetter T, Geck M. Organopolysiloxanpartikel enthaltende acrylathaltige Zusammensetzung. *DE Patent Application* 19816148 (to Wacker-Chemie GmbH), 1999.
43. Xu HH, Smith DT, Schumacher GE, Eichmiller FC, Antonucci JM. Indentation modulus and hardness of whisker-reinforced heat-cured dental resin composites. *Dent Mater* 2000 ; 16 : 248-254.
44. Furman BR, Rawls HR, Wellinghoff ST, Dixon H, Lankford J, Nicolella D. Metal-oxide nanoparticles for the reinforcement of dental restorative resins. *Crit Rev Biomed Eng* 2000 ; 28 : 439-443.
45. Furman BR, Rawls HR, Norling BK, Wellinghoff ST. Mechanically strong and transparent or translucent composites made using Zirconium oxide nanopatricles. *Intl Patent Application* PCT WO 00/69392 (to Southwest Research Institute), 2000.
46. Taira M, Toyooka H, Miyawaki H. Studies on radiopaque composites containing ZrO_2-SiO_2 fillers prepared by the sol-gel process. *Dent Mater* 1993 ; 9 : 167-171.

NOUTĂŢI

SCINTIMAMOGRAFIA CU O GAMMA CAMERA DEDICATĂ DE ÎNALTĂ REZOLUŢIE VERSUS MAMOGRAFIE ÎN DETECŢIA CANCERULUI DE SÂN

Un studiu a comparat scintimamografia (SM) planară preoperatorie cu ^{99m}Tc tetrofosmin, realizată cu o gama camera dedicată de înaltă rezoluţie (DBC), cu mamografia convenţională, în detecţia cancerului de sân multifocal, multicentric şi bilateral şi al impactului în planificarea chirurgicală. Astfel, SM a fost : pozitivă la 41 din 44 pacienţii cu neoplasm mamar (93,2%) vs mamografie la 40 din 44 (90,1%) ; a evidenţiat cancer multifocal la 87,5% din pacienţi vs mamografie la 47,5% ($P<0{,}0005$) ; a detectat un număr semnificativ mai mare de situsuri invazive adiţionale comparativ cu mamografia (89,6% vs 37,9%), $P<0{,}0005$; a evidenţiat multifocalitatea/multicentricitatea ipsilaterală în 35% din cazuri iar bilateralitatea în 100% de cazuri vs mamografie în 75% din cazuri. Specificitatea SM a fost de 88,25% vs 52,9% pentru mamografie. SM a modificat managementul chirurgical în 16% din cazuri, demonstrând utilitatea sa în diagnosticul şi managementul cancerului de sân (Spanu A et al. Scintimammography with high resolution dedicated breast camera and mammography in multifocal, multicentric and bilateral breast cancer detection : a comparative study. *QJ Nucl Med Mol Imag* 2009 ; 53 : 133-143).

Ana Maria Stătescu

EFECTUL ALBIRII DENTARE ASUPRA ELIBERĂRII DE IONI DE MERCUR DIN RESTAURĂRILE CU AMALGAM

Albirile dentare reprezintă proceduri frecvent aplicate în cabinetele de medicină dentară dar şi auto-administrate de către pacienţi la domiciliu. Efectul agenţilor de albire asupra restaurărilor dentare deja existente în cavitatea orală este mai puţin cunoscut. Totuşi, este de presupus că fiind substanţe puternic oxidante, aceştia pot reacţiona cu suprafaţa unor materiale dentare. In cazul amalgamului, mecanismele prin care agenţii de albire interacţionează cu aliajul nu sunt bine înţelese, dar este cunoscut faptul că rezultatul este eliberarea de ioni de mercur. Autorii studiului au evaluat cantitatea de ioni de mercur eliberaţi din amalgamul dentar aflat în contact cu soluţii de peroxid de hidrogen. Cantitatea de ioni a fost măsurată prin spectroscopie de masă. Pentru toate perioadele de contact s-au înregistrat cantităţi semnificativ mai crescute de ioni de mercur în cazul soluţiilor care au conţinut peroxid de hidrogen comparativ cu lotul în care soluţia de stocaj a fost apa distilată. Rezultatele studiului atrag atenţia asupra potenţialului toxic al albirilor dentare aplicate la pacienţii care prezinţă multiple restaurări cu amalgam (Al-Salehi SK. Effects of bleaching on mercury ion release from dental amalgam. *J Dent Res* 2009 ; 88(3) : 239-243).

Gianina Iovan

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

THE PROTECTIVE EFFECT OF SUPEROXID DISMUTASE ON ISOLATED HUMAN MAMMARY ARTERIES PREINCUBATED WITH TRIGLYCERIDE-RICH REMNANT LIPOPROTEINS

Germaine Săvoiu[1], Simona Drăgan[2], Carmen Cristescu[3], Corina Şerban[4], Lavinia Noveanu[5], Daniela Ionescu[3], T. Nicola[6], Oana Duicu[4], Andreea Răducan[4], Mirela Voicu[3]
"V. Babeş" University of Medicine and Pharmacy Timişoara
School of Pharmacy
1. Department of Anatomy, Physiology and Pathophysiology
School of Medicine
2. Department of Preventive Cardiology and Rehabilitation
3. Department of Clinical Pharmacy
4. Department of Pathophysiology
5. Department of Physiology
6. Clinic of Oncology

THE PROTECTIVE EFFECT OF SUPEROXID DISMUTASE ON ISOLATED HUMAN MAMMARY ARTERIES PREINCUBATED WITH TRIGLYCERIDE-RICH REMNANT LIPOPROTEINS (Abstract): The main changes of the plasma lipid profile in patients with endothelial dysfunction are the increased triglyceride content of the lipoprotein remnant particles, the presence of the small and dense LDL particles and the decreasing of the HDL-cholesterol level. **Material and method**: Considering these observations, we performed „in vitro" experiments using human mammary artery rings, in order to examine the effect of the lipoprotein „remnants" on endothelium-dependent vasodilatation induced by cumulative doses (10^{-9} M - 10^{-4} M) of adenosine (ADP) and to study the effect on endothelial - independent vasodilatation induced by cumulative doses (10^{-9} M–10^{-4} M) of sodium-nitropruside (NSP), respectively. **Results**: Our results showed that 1 hour pre-incubation with triglyceride - rich lipoprotein remnants diminished the endothelial-dependent vasodilator response to ADP, but it has not modified the endothelial-independent vasodilator response to NSP. Vascular response was expressed as maximal vasodilatation from the 10^{-4}M phenilephrine (PE) induced pre-contraction, considered as reference. In the case of ADP, the maximal vasodilatation was ranged in 36.50% ± 10.81% interval, comparing with the control group that presented a maximal vasodilatation of 66.15% ± 19.41% ($p < 0.005$). In the case of NSP the maximal vasodilatation was ranged in 99.78% ± 10.53% interval, comparing with the control that presented a maximal vasodilatation of 98.99% ± 12.45% ($p = 0.44$). One hour co-incubation of the rings with a solution containing lipoprotein remnants (1% oxidized IDL (ox-IDL) and antioxidant factor (150 U/mL 10^{-4} M Superoxid dismutase (SOD) significantly reduced the impairment of the vasodilatation response to ADP. Maximal vasodilatation of ox-IDL and SOD coincubated human mammary artery rings was 58.50% ± 10.63% compared to the control, were the maximal vasodilatation was 66.15% ± 19.41% ($p<0.01$), but has not modified the vasodilatation response to NSP (99% ± 0.53% vs control 98.99% ± 12.45%, $p=0.56$). **Conclusion**: The endothelial dysfunction induced by the triglyceride-rich lipoprotein „remnants", could contribute to the pathogenesis of atherosclerosis and the treatment with high doses of antioxidants could „protect" the endothelium against the pro-atherogenic action of the lipoprotein „remnants". **Key words**: SOD, HUMAN MAMMARY ARTERIES, IDL

There is a growing body of evidence from epidemiologic, clinical, and experimental studies that indicates that elevated triglyceride levels are an independent risk factor for cardiovascular disease (1).

Hypertriglyceridemic patients at risk for cardiovascular disease often develop a plasmatic lipoprotein profile characterized by: triglyceride-rich remnant, small and dense LDL, and low level of HDL cholesterol (2).

The success of a vessel in acting as a bypass conduit is influenced greatly by the integrity and function of its endothelium (3). The endothelium releases a number of key mediators that help to control vascular tone, smooth muscle cell migration and proliferation, as well as platelet activation. One of these substances is nitric oxide ($NO_{\bullet}$). $NO_{\bullet}$ not only acts as a vasodilator substance but also decreases the adhesive properties of the endothelium with respect to the interaction with leucocytes and platelets.

This keeps the graft patent and decreases the rate of its attrition. Endogenous $NO_{\bullet}$ can be consumed by its reaction with another free radical, the superoxide anion ($O^{2-}_{\bullet}$) to produce a toxic substance, peroxynitrite (ONOO-).

If the atherogenic role of HDL cholesterol decrease as well as of LDL phenotype B, with recognized predisposition for peroxidation, is well established, the data concerning the atherogenity of triglyceride rich remnants are contradictory and scarce (2).

The present study was designed to investigate "in vitro" the effect of superoxid dismutase (SOD) on isolated human mammary arterial rings preincubated with triglyceride rich remnant lipoproteins.

MATERIAL AND METHOD

Preparation of remnant lipoproteins

Venous blood from hypertriglyceridemic subjects (TG =200 mg %) was collected into specimen tubes containing EDTA. Lipoproteins have been separated from plasma by sequential density gradient ultracentrifugation (4). First, chylomicrons (chy) and very low density lipoproteins (VLDL) were removed by centrifugation of plasma (non-protein density 1.006) at 50.000 x g for 3.5 hours at 12-15°C. Then, remnant lipoproteins (IDL with density 1.006 to 1.019 g/mL) were concentrated in a layer at the top of mixture with 1.019 g/mL density after ultracentrifugation during 20 to 22 hours at a speed of 100.000 x g.

Isolated native IDL was oxidatively modified by incubation with 5 µM $CuSO_4$ for 3 h at 37°C. Oxidized IDL (ox-IDL) was eluted with phosphate buffer solution (PBS) to 5 mg proteins/ml.

Preparation of vascular rings

Experiments were performed on human mammary arteries from patients undergoing coronary by-pass intervention. The segments of artery were cleared of connective tissue with care taken not to damage the intimal surface, and cut into 2 to 3 mm wide rings. The rings were suspended between two parallel stainless steel hooks in a 10 ml organ bath (BIOPAC System Inc., USA) containing modified Krebs-Henseleit buffer (composition: NaCl 118 mmol/L; $NaHCO_3$ 25 mmol/L; KCl 4.7 mmol/L; $CaCl_2$ 1.6 mmol/L; KH_2PO_4 1.2 mmol/L; $MgSO_4$ 1.2 mmol/L; glucose 11.1 mmol/L) maintained at 37°C and continuously ventilated with a mixture of 95% O_2 and 5% CO_2 (fig. 1). One of the hooks was connected to a FORT 10 force transducer (World Precision Instruments Inc.) for isometric tension recording. For data acquisition we used a MP100 hardware and AcqKnowledge software, version 3.7.2 (BIOPAC System Inc., USA).

The rings were equilibrated for 60 minutes under a resting tension of 1.75 cN and the buffer was replaced every 15 min. To confirm viability of vascular smooth muscle vessel rings were contracted twice

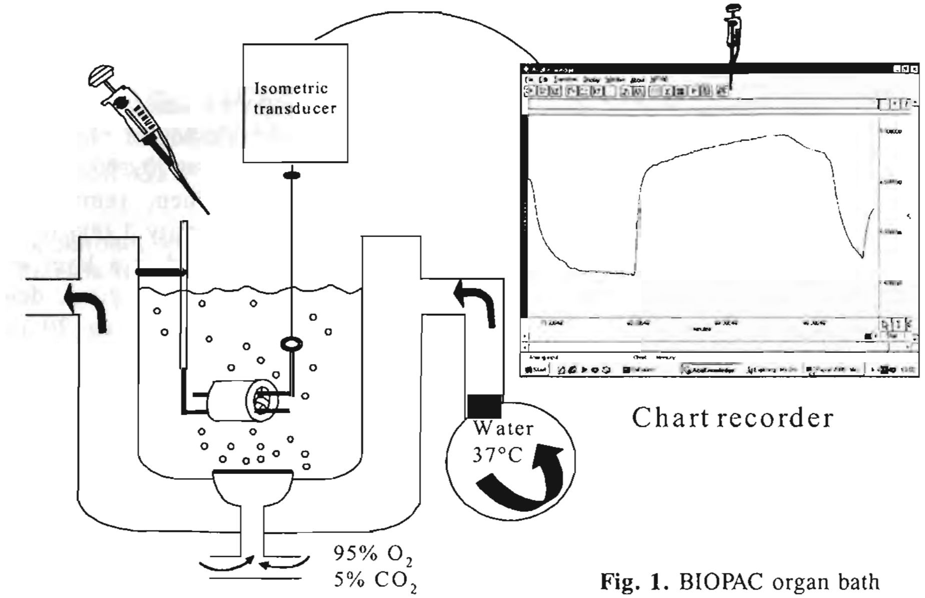


Fig. 1. BIOPAC organ bath

with KCl 70 mmol/L. A relaxation response to adenosine diphosphate (ADP), an endothelium-dependent vasodilator, of 15% or more from the stable tension induced by KCl triggered depolarization was considered as functioning endothelium (5).

Experimental protocol

After washout and return to baseline, the rings were incubated for 1 hour with a solution of 1% ox-IDL (100 ěL proteins/ml Krebs buffer) (n = 5), or coincubated for 1 hour with 1% ox-IDL and SOD 150 U/mL (n = 5) or with 1% ox - IDL.

In control group (n = 5) the vascular rings were exposed to the same volume of PBS. After incubation and repeated washing, indomethacin (10^{-5}M) was added to organ bath and left throughout the experiment to eliminate the influence of prostaglandin synthesis. To study endothelium-dependent relaxation, we preconstricted rings with phenylephrine (PE; 10^{-5}M) and a cumulative concentration-response curve to ADP (10^{-9} - 10^{-4}M) was obtained in all rings. After this first step, the baths were washed out three times with fresh Krebs solution and the rings were allowed to stabilize until the tension return to baseline. Finally, to examine endothelium-independent relaxation, vascular rings were exposed to sodium nitroprusside in increasing doses (from 10^{-9} to 10^{-4}M) following precontraction by PE and in the presence of indomethacin. All chemicals were purchased from Sigma Chemicals Co.

Relaxation response of each human mammary artery ring was assessed by measuring the reduction in vascular tone at cumulative dose of the vasodilator agent and expressed as percentage change from the stable tension produced by PE (100 x șprecontracted tension – measured tensionț/ șprecontracted tension – baseline tensionț). Maximal relaxation was the greatest reduction in tone to response to a vasodilator.

Data analysis

All data in the text and figure are expressed as mean ± SD of experiments from n vascular rings. Statistical comparison was performed using 2-tailed Student's test. The differences were considered to be significant at a level of $P < 0.05$.

TABLE I

Vascular reactivity data obtained of human mammary artery rings coincubated with ox-IDL and SOD

PARAMETERS	INITIAL	ox – IDL	ox – IDL + SOD	p
I. Precontraction induced by PHE 10^{-5} M				
g forță	3.59 ± 0.66	3.60 ± 0.97	3.66 ± 1.01	0.34
II. Endothelial-dependent relaxation induced by 5'ADP (%)				
10^{-9}M	0	0	0	
10^{-8}M	1.05 ± 0.33	1.08 ± 0.55	1.98 ± 0.37	0.43
10^{-7}M	5.59 ± 4.30	5.64 ± 4.46	7.43 ± 4.09	0.54
10^{-6}M	28.13 ± 7.16	18.25 ± 1.86	25.50 ± 7.00	0.03
10^{-5}M	46.35 ± 12.12	26.00 ± 4.90	39.50 ± 7.50	0.03
10^{-4}M	66.15 ± 19.41	36.50 ± 10.81	58.50 ± 10.63	0.01
III. Endothelial-independent relaxation induced by NPS (%)				
10^{-9}M	2.81 ± 4.55	2.48 ± 5.57	3.49 ± 1.77	0.24
10^{-8}M	35.13 ± 14.16	36.24 ± 17.61	36.24 ± 17.61	0.26
10^{-7}M	63.02 ± 33.99	61.77 ± 32.09	61.77 ± 32.09	0.46
10^{-6}M	97.15 ± 12.38	97.85 ± 10.48	90.55 ± 10.48	0.43
10^{-5}M	98.20 ± 11.10	98.22 ± 3.85	97.22 ± 13.85	0.42
10^{-4}M	98.99 ± 12.45	99.78 ± 10.53	99 ± 0.53	0.56

Note: dates are presented as mean ± standard deviation

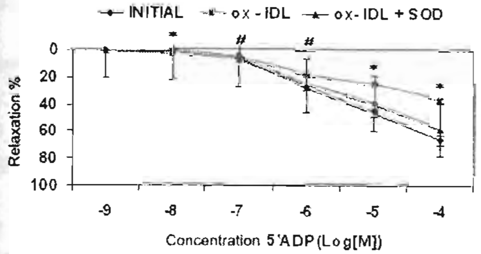


Fig. 2. Dose-response curves obtained on vascular mammary rings coincubated with ox-IDL and 5'ADP (*p = 0.01, #p = 0.04 *vs.* ox-IDL)

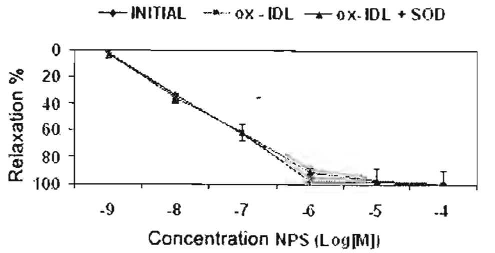


Fig. 3. Dose-response curves obtained on vascular mammary rings coincubated with ox-IDL and SOD

RESULTS

The results of assessment of vascular reactivity in human mammary artery rings are presented in table I. Values are means + SD. PE: phenylephrine; ADP: adenosine dyphosphate; SOD - superoxid dismutase, NSP: sodium nitroprusside.

The values of preconstriction with PE were not significantly different between groups. In PE-preconstricted vascular rings, ADP elicited a concentration-dependent relaxation that was diminished in human mammary arteries incubated with ox-IDL (fig. 2). Endothelium-independent relaxation induced by SNP was similar in all groups (fig. 3).

Dates about comparative vascular reactivity initially, after preincubation with ox-IDL and after coincubation ox-IDL with SOD are listed in table I. The figure 1 shows graphically, dose-response curves obtained to 5ˇADP and the figure 2 shows graphically, dose-response curves obtained to NSP.

The statistical analysis showed modification only in the case of endothelial-dependent vasodilatation. Coincubation of ox-IDL with SOD significantly increased the vasodilator response to 5ˇADP for all the doses used, respectively 10^{-8} M (p =

0.01), 10^{-7}M ($p = 0.04$), 10^{-6}M ($p = 0.04$), 10^{-5}M ($p = 0.01$) and 10^{-4} M ($p = 0.01$). Comparative to initial reactivity (control) we didn't obtained significant differences between used doses, showing the preservation of the vasodilator endothelial-dependent response.

DISCUSSIONS

The present data indicate that in human mammary artery rings, ADP-mediated endothelium-dependent relaxation was significantly attenuated by preincubation with oxidized IDL (ox-IDL). A nonspecific attenuation of vasodilator capacity is not very likely, since the endothelium-independent vasodilatation induced by sodium nitroprusside was preserved. The fact, that the cyclooxigenase inhibitor indomethacin was present in all experiments, strongly suggests that remnant lipoproteins may induce primary impairment of endothelial vasomotor function by decreasing the release and/or activity of nitric oxide (NO) in vascular endothelial cells. Our results are in agreement with the findings reported by the team of H. Yasue, in isolated rabbit aortas (6) and in human coronary arteries (7).

As the SOD system is an important antioxidant system in human vascular beds, we studied the effect of preincubation of human artery mammary rings with this antioxidant (3).

Recent it was revealed that increased serum triglyceride levels are closely related to atherosclerosis, independently of serum levels of high-density lipoproteins and low-density lipoproteins (8).

Among triglyceride-rich lipoproteins, remnant lipoproteins may be oxidatively modified in the arterial intima and cause an increase in the susceptibility of vascular endothelium to oxidative stress, via lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) (9). This mechanism may play a role in the genesis of endothelial dysfunction in subjects with high remnant lipoprotein levels. Other molecular mechanisms for proatherogenic properties of remnant lipoproteins are following: increased adhesion of monocytes to vascular endothelial cells monocytes; increased smooth muscle cell proliferation, independently of oxidative stress, via epidermal growth factor receptor transactivation; and induced foam cell formation in macrophages via apoB48 receptor (9).

CONCLUSIONS

Triglyceride-rich remnant lipoproteins impair vasomotor function of endothelium in isolated human mammary arteries. Endothelial dysfunction induced by these remnants could contribute to the pathogenesis of atherosclerosis associated with hypertriglyceridemia. Therefore, the administration of the antioxidant agents may protect the endothelium against the remnants lipoproteins.

The implication of the oxidative mechanism in exercitation of the direct effects was sustained by protective character of coincubation of the vascular mammary rings with an antioxidant factor (SOD).

Our studies proved the benefic effect of the presence in vitro of an antioxidant factor and sustain the importance of the endogen antioxidant capacity of the body.

This conclusion supports the concept that each of the changes in the plasma lipoproteins associate with elevated triglyceride plasma level contribute to the increased risk of premature cardiovascular disease.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by the following research grants from the Romanian Ministry of Education and Research: CNCSIS grant type A, code 71/2005; CEEX grant type P-CD, code 81/2006 Academy of Medical Sciences; VIASAN grant type PED, code 034/2004.

REFERENCES

1. Gotto A. Triglyceride as a risk factor for coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1998; 82: 22Q-25Q.
2. Brewer BH. Hypertriglyceridemia: changes in the plasma lipoproteins associated with an increased risk of cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 1999; 83: 3F-12F.
3. Mangoush O, Athanasiou T, Nakamura K et al. Antioxidant properties of the internal thoracic artery and the radial artery. *Heart, Lung and Circulation* 2008; 17: 40-47.
4. Havel RJ, Eder HA, Bragdon JH. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J Clin Invest* 1955; 34: 1345-1353.
5. Fira-Mladinescu O, Hâncu M, Săvoiu G. An experimental model for studing the vasomotor function of vascular endothelium on aortic ring from rat. *Medicina în evoluţie* 2002; 3: 30-34.
6. Doi H, Kugiyama K, Ohgushi M et al. Membrane active lipids in remnant lipoproteins cause impairment of endothelium-dependent vasorelaxation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 1918-1924.
7. Kugiyama K, Doi H, Motoyama T et al. Association of remnant lipoprotein levels with impairment of endothelium-dependent vasomotor function in human coronary arteries. *Circulation* 1998; 97: 2519-2526.
8. Nakajima K, Nakano T, Tanaka A. The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: the comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clin Chim Acta* 2006; 367: 36-47.
9. Kawakami A, Yoshida M. Remnant lipoproteins and atherogenesis. *J Atheroscler Thromb* 2005; 12: 73-76.

NOUTĂŢI

CLASE TERAPEUTICE CU RISC ÎNALT PENTRU RISCUL DE SINCOPĂ LA SUBIECŢII ÎN VÂRSTĂ

O meta-analiză ce evaluează riscul de sincopă la subiecţii în vârstă de peste 60 de ani utilizând datele exhaustive publicate în revistele internaţionale între anii 1996 ?i 2007 este realizată de Woolcott şi colaboratorii. Metodele baysiene au permis integrarea datelor noi obţinute într-o serie de meta-analize precedente, pentru a se estima Odds ratio (OR) astfel actualizate. Din cele 11.118 de articole identificate, doar 22 au corespuns criteriilor de includere. Meta-analizele au fost complet realizate pentru 9 clase terapeutice (folosind datele de la 79 081 subiecţi), astfel: antihipertensive - OR=1,24, interval de încredere la 95% (IÎ 95) 1,01-1,5; diuretice - OR=1,07, IÎ 95 1,01-1,14; betablocante - OR=1,01, IÎ 95 0,86-1,17; sedative şi hipnotice - OR=1,47, IÎ 95 1,35-1,62; neuroleptice şi antipsihotice - OR=1,59, IÎ 95 1,37-1,83; antidepresive - OR=1,68, IÎ 95 1,47-1,91; benzodiazepine - OR=1,57, IÎ 95 1,43-1,72; narcotice - OR=0,96, IÎ 95 0,78-1,18; antiinflamatoare nesteroidiene - OR=1,21, IÎ 95 1,01-1,44. O ajustare statistică integrând principalii factori confuzionali potenţiali a condus la rezultate oarecum diferite pentru unele din clasele terapeutice investigate (ORA semnificând odds ratio ajustată): diuretice - ORA= 0,99, IÎ 95 0,78-1,25; neuroleptice şi antipsihotice - ORA= 1,39, IÎ 95 0,94-2,00; antidepresive - ORA= 1,36, IÎ 95 1,13-1,76; benzodiazepine - ORA= 1,41, IÎ 95 1,20-1,71. Această analiză confirmă existenţa unor clase terapeutice, cu precădere sedativele, hipnoticele, antidepresivele şi benzodiazepinele, ce trebuie utilizate cu prudenţă maximă la subiecţii vârstnici, pe cât posibil în doze minime eficace (Woolcott JC et al. Meta-analysis of the impact of 9 medication classes on falls in elderly persons. *Arch Intern Med* 2009; 169: 1952-1960).

Al.D. Ciochină

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

IDENTIFICAREA SEMNIFICAŢIEI PROGNOSTICE A FENOTIPULUI ASOCIAT LEUCEMIEI ÎN CORELAŢIE CU ALŢI MARKERI BIOLOGICI LA PACIENŢII CU LEUCEMIE ACUTĂ MIELOBLASTICĂ

Angela Dăscălescu[1], Mihaela Zlei[2], Georgiana Grigore[2],
C. Dănăila[1], Daniela Jitaru[2], E. Carasevici[3]
Universitatea de Medicină şi Farmacie"Gr.T. Popa"Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Disciplina de Hematologie
3. Disciplina de Imunologie
Spitalul Clinic Judeţean de Urgenţă "Sf. Spiridon" Iaşi
2. Laboratorul de Imunologie Tumorală

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF LEUKEMIA-ASSOCIATED PHENOTYPE IN CORRELATION WITH OTHER BIOLOGIC MARKERS IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA PATIENTS (Abstract): Leukemic cells have unique aberrant phenotypes, which permit identification of this cells at diagnose and in evolution of the disease. Signaling molecules with other cells and bone marrow stroma are part of the leukemic cells phenotype. Genetic and molecular abnormalities have the main prognostic significance and confer the leukemic cell status. The main aim of the current study is to identify correlation between recognized prognostic factors in acute myeloid leukemia (AML) patients and other phenotypic markers. **Material and method**: Imunophenotypic analysis (BDFACS CantoII, FACSDiva Software) was performed on peripheral blood/bone marrow aspirate samples of 56 patients diagnosed with AML (9 M0, 3 M1, 10 M2, 4 M3, 28 M4/M5, 1 M6, 1 M7) between 2007-2009 in Hematology Department of "Sf. Spiridon" Hospital Iaşi. We used an extended panel of monoclonal antibodies and we determined the level of expression of cytokines receptors (IL3Ra, IL7R) and chemokines (CXCR4, CKR5). **Results**: In our study, IL7R expression on AML blasts was significant correlate with low WBC count at diagnosis (p=0.04) and with multilinear displasia (p=0.01), high CXCR4 expression was correlate (p=0.05) with lack of response at first induction therapy and CD123 (IL3Ra) expression was correlate with M4 FAB phenotype. Survival was negative influenced by presence of IL3R on AML blasts, but flt3 mutations, CXCR4, IL7R expression on leukemic cells, other phenotypic aberrancies did not influenced treatment response and survival in our patients population. **Conclusion**: Complete investigation of leukemic cells phenotype extended with cytokines/ chemokines receptors at diagnostic is useful for correct characterization of the disease, for discover new prognostic categories and for better identification of minimal residual disease. **Key words**: ACUTE MYELOID LEUKEMIA, IMMUNOPHENOTYPE, PROGNOSTIC, CYTOKINES, CHEMOKINES

Leucemia acută mieloblastică (LAM) este o forma agresivă de neoplasm ce apare datorită unor alterări genetice la nivelul progenitorilor mieloizi. Imunofenotiparea este foarte utilă în diagnosticul şi clasificarea leucemiilor acute mieloblastice alături de morfologie, citochimie şi citogenetică (1).

Factorii de prognostic ce se consideră că influenţează semnificativ răspunsul la tratament şi supravieţuirea sunt multipli parametri clinici şi biologici cum ar fi: vârsta peste 60 de ani, LAM secundară versus de novo, un număr crescut de leucocite la diagnostic, o valoare crescută a lacticdehidrogenazei (LDH), mutaţiile genei FLT3 (1). Anomaliile citogenetice reprezintă unul din cei mai acceptaţi factori de prognostic (2). Semnificaţia prognostică a markerilor determinaţi prin flowcitometrie la nivelul celulelor leucemice rămâne deocamdată neclară (2). Unele studii au sugerat că CD13, CD14, CD15, CD34 şi expresia antigenilor limfoizi - CD2, CD7, CD19, CD56 au o semnificaţie prognostică la pacienţii cu LAM (2).

O mare parte din pacienţii cu LAM prezintă un fenotip asociat leucemiei distinct de cel al progenitorilor mieloizi normali (3). Acesta rezultă din: asincronismul de expresie al antigenilor (expresia simultană a markerilor specifici celulelor tinere şi adulte la nivelul unei singure celule, cum ar fi coexpresia CD34 şi CD15), infidelitatea de lineaj- expresia unor antigeni limfoizi la nivelul blaştilor mieloizi, expresia înaltă a unui antigen- expresia anormal crescută a uni antigen pe suprafaţa unei celule, absenţa unor antigeni specifici de lineaj- de exemplu lipsa CD13 si CD33 la nivelul blaştilor mieloizi (3). O posibilă explicaţie a prezenţei acestui fenotip asociat leucemiei la nivelul blaştilor ar fi prezenţa anomaliilor citogenetice ce alterează patternul normal al expresiei antigenilor (4).

Alţi factori de prognostic identificaţi recent sunt expresia receptorilor pentru chemokine şi citokine la nivelul celulelor leucemice (5). În acest sens, multiple studii susţin că expresia înaltă a CXCR4 la nivelul celulelor leucemice din LAM reprezintă un factor de prognostic negativ (6).

Studiul nostru efectuat pe un lot de 56 de pacienţi are ca scop caracterizarea completă a celulelor leucemice la diagnostic atât în ceea ce priveşte fenotipul cât şi expresia unor receptori pentru chemokine şi citokine, precum şi prezenţa mutaţiei Flt3 şi stabilirea unor corelaţii prognostice.

MATERIAL ŞI METODĂ

Au fost folosite probele de aspirat medular şi/sau de sânge periferic recoltate pe EDTA de la 56 de pacienţi cu leucemie acută mieloblastică. Probele au fost recoltate la diagnostic în perioada iulie 2007-iulie 2009.

Diagnosticul a fost pus pe baza datelor morfologice şi imunofenotipice. Caracteristicele lotului de bolnavi sunt prezentate în tabelul I.

S-au recoltat probe de sânge periferic pe EDTA pentru identificarea mutaţiilor flt3 la diagnostic.

Imunofenotiparea s-a realizat pe probe de aspirat medular şi/sau sânge periferic cu liză eritrocitară. Analiza prin citometrie în flux multiparametrică (6 culori) s-a realizat cu un citometru FACSCanto II (BD-Becton Dickinson, software achiziţie FACSDiva, BD, software analiza FlowJo-Tri Star Inc.). Pentru analiza fenotipică s-a folosit un panel de 29 de anticorpi monoclonali: CD45, CD14, CD3, CD5, CD7, CD4, CD8, CD19, CD20, CD22, CD33, CD13, CD15, CD10, HLA-DR, CD16/56, CD34, CD117, CD38, CD71, CD41, CD64, CD235a, Tdt, MPO, CD79a, CD36, CD11b, CD11c, CD56, CD133. S-a determinat nivelul de expresie al receptorilor pentru chemokine/citokine: CXCR4, CKR5, IL3Ra, IL7R şi s-a detectat MFIR (Mean Fluorescence Intensity Ratio) pentru aceşti receptori. S-a utilizat analiza multiparametrică cu 6 culori cu o combinaţie de markeri necesari pentru strategia optimă de gatting a populaţiei celulare de interes şi pentru a stabili statusul de diferenţiere celulară în raport cu expresia CD133 şi CD34. S-a considerat pozitivitatea receptorilor la o valoare a MFIR de 2 cu o expresie intermediară MFIR între 2 şi 5 , şi înaltă MFIR > 5.

Analiza moleculară pentru determinarea mutaţiilor genei Flt3 ITD şi D835 în probele de sânge periferic/aspirat medular la

TABELUL I

Caracteristicile lotului de pacienţi diagnosticaţi cu leucemie acută mieloblastică

Caracteristici	Frecvenţă
Sex (B/F)	29/27
Vârstă medie la diagnostic	65 (18-82 ani)
Numărul de leucocite la diagnostic (mediana x10^9/L)	13,06 (0,56-399)
Valoarea Hb la diagnostic (mediana g/L)	69,50 (38-129)
Numărul de plachete la diagnostic (mediana x10^9/L)	35 (5-371)
Asocierea displaziei multilineare (prezentă/absentă)	23/33
Mediana valorii LDH la diagnostic (U/L)	475 (136-2378)
Clasificarea FAB	
M0	9
M1	3
M2	10
M3	4
M4	20
M5	8
M6	1
M7	1
Prezenţa mutaţiilor genei Flt3 (prezente/absente)	7/49

cei 56 de pacienţi cu LAM la diagnostic, a fost realizata prin extracţie ADN, amplificare PCR, migrare în gel de agaroză 2%.

REZULTATE

Am identificat un fenotip aberant asociat leucemiei la 31 din cei 56 de pacienţi analizaţi. Cele mai frecvente anomalii fenotipice în lotul nostru au fost: infidelitatea de lineaj - prezenţa markerilor limfoizi: prezenţa CD7 la 9 cazuri, prezenţa CD19 într-un caz, prezenţa CD56 în 3 cazuri, lipsa unor markeri fideli de lineaj - în 4 cazuri am depistat lipsa CD33, iar în alte 4 cazuri lipsa CD13, precum şi anomalii complexe cum ar fi: absenţa CD13 asociată cu prezenţa CD7, prezenţa aberantă la nivelul aceleiaşi populaţii de blaşti a CD56 şi a CD19, asincronism de maturaţie: CD34+, CD117+, CD33+, HLA/DR+, CD15+ în 3 cazuri.

În ceea ce priveşte expresia receptorilor pentru citokine am identificat prezenţa IL7R la 18 cazuri, iar în 5 din aceste cazuri o expresie înaltă a acestui receptor (MFIR mai mare ca 5). Am observat de asemnenea corelaţia semnificativă statistic între prezenţa IL7R la suprafaţa celulelor leucemice şi numărul de globule albe mai mic de 30x 10^9/L la diagnostic (p=0,04) şi, de asemenea, între prezenţa IL7R pe suprafaţa blaştilor şi prezenţa displaziei medulare multilineare la diagnostic (p=0,01).

Expresia CXCR4 a fost prezentă la 27 de cazuri din cele analizate, la 17 pacienţi remarcându-se o expresie înaltă a CXCR4 la nivelul celulelor leucemice. Expresia înaltă a CXCR4 (MFIR mai mare ca 5) la nivelul blaştilor LAM în lotul nostru de pacienţi a influenţat negativ semnificativ statistic (p=0,05) răspunsul terapeutic la tratamentul de inducţie.

Expresia IL3Ra (CD123) la nivelul blaştilor în lotul nostru de pacienţi a fost întâlnită în 26 de cazuri, remacându-se o expresie înaltă în 14 cazuri. Expresia CD123 la nivelul blaştilor leucemici a fost prezentă semnificativ statistic la pacienţii cu formele FAB M4/M5 (p=0,06) şi a influenţat semnificativ statistic supravieţuirea pacienţilor din lotul nostru, prezenţa CD123 la nivelul blaştilor leucemici având o influenţă negativă asupra supravieţuirii (p=0,02).

Expresia CKR5 (CCR5) a fost identificată la nivelul celulelor leucemice la 19 pacienţi din lotul nostru, la 11 din aceştia identificându-se o expresie înaltă a acestui receptor. Expresia CCR5 s-a corelat semnificativ statistic în lotul nostru cu prezenţa CD13 la nivelul blaştilor leucemici.

Evoluţia pacienţilor din lotul nostru: răspunsul terapeutic la tratamentul de inducţie a remisiunii şi supravieţuirea globală nu au fost influenţate semnificativ statistic de nici unul din factorii analizaţi: aberaţiile fenotipice, expresia receptorilor pentru chemokine şi citokine (cu excepţia IL3Ra), prezenţa mutaţiilor genei Flt3.

DISCUŢII

Expresia receptorilor pentru citokine a fost identificată la nivelul celulelor leucemice din diferite forme de leucemie acută (7), dar semnificaţia acestora nu este încă suficient cunoscută. Aceşti factori de creştere sunt probabil implicaţi în prevenirea apoptozei celulelor tumorale, stimularea proliferării celulare (IL-7, IL-10 şi IL-15) (8), controlul modulării imune (IL-10 şi TGF-β) (8) ca şi în neovascularizarea tumorala (IL-15, IL-18, VEGF) (9). În acest context se presupune că aceşti factori reglatori ar putea juca un rol decisiv în răspunsul şi eşecul chimioterapiei (9).

Interleukina 7 este un factor de creştere pentru celulele T implicat în reconstituirea imună tardivă. Într-un studiu publicat în 2002 (10) s-a constat că pacienţii cu LAM netrataţi au un nivel scăzut de IL-7, în timp ce pacienţii în remisiune completă au nivele mai crescute de IL-7, aceste nivele au scăzut semnificativ în timpul aplaziei postterapeutice (10). În studiul nostru expresia receptorului pentru IL7 se corelează semnificativ cu un număr mai scăzut de leucocite la diagnostic şi cu prezenţa displaziei multiliniare.

Diferite studii au indicat că adeziunea la stroma medulară afectează supravieţuirea şi proliferarea blaştilor din LAM (11,12) şi protejează celulele LAM de acţiunea citostaticelor *in vivo* (13) şi *in vitro* (14). Moleculele de adeziune (integrine, selectine) sunt responsabile numai pentru adeziunea iniţială, tranzitorie, este însă necesară o a doua etapă stimulată de activarea receptorilor pentru chemokine pentru a transforma adeziunea reversibilă într-una fermă şi pentru migrarea direcţionată (15).

Receptorul CXCR4 este funcţional în LAM chiar dacă nivelul de expresie al acestuia la nivelul celulelor leucemice este heterogen. CXCR4 reţine progenitorii hematopoietici şi celulele leucemice în micromediul medular (16).

Un studiu recent (6) a evaluat implicarea prognostică a CXCR4 în LAM şi s-a constatat că expresia CXCR4 este un factor de prognostic independent pentru recăderea bolii şi supravieţuire. Determinarea expresiei la suprafaţa celulelor leucemice a CXCR4 determinata prin flowcitometrie poate fi încorporată în evaluarea diagnostica iniţiala a pacienţilor cu LAM. În acelaşi sens se încadrează şi rezultatele din studiul nostru în care se constată influenţa negativă a expresiei înalte a CXCR4 asupra răspunsului terapeutic.

Recent expresia CXCR4 pe celulele CD34+ de la pacienţii cu LAM a fost corelată cu mutaţia Flt-3 şi cu un prognostic nefavorabil (17), dar în studiul nostru această corelaţie nu a fost identificată.

S-a remarcat, de asemenea, în lotul nostru de pacienţi expresia intensă a receptorului pentru IL3 subunitatea alfa la nivelul blaştilor leucemici la pacienţii cu LAM forma M4. Receptorul pentru IL-3 are o structură heterodimerică (18). Expresia IL-3R a fost menţionată în alte studii la suprafaţa blaştilor leucemici (19) în leucemia acută mieloblastică. Se menţionează, de asemenea, expresia subunităţii α la nivele semnificativ mai ridicate pe blaştii leucemici în comparaţie cu progenitorii hematopoietici normali şi este semnificativ crescută pe fracţiunea de celule leucemice cu potenţial de celulă stem tumorală (20).

CONCLUZII

Studiul de faţă a vizat identicarea fenotipului complet al celulelor leucemice din leucemia acută mieloblastică la diagnostic şi a unor noi factori ce influenţează evoluţia bolii şi supravieţuirea. Prin completarea caracterizării celulelor leucemice la diagnostic cu depistarea receptorilor pentru chemokine şi citokine putem descoperi noi semnificaţii prognostice ale acestora, noi posibilităţi pentru detectarea bolii minime reziduale şi, posibil, noi ţinte terapeutice.

BIBLIOGRAFIE

1. Repp R, Schaekel U, Helm G et al. Immunophenotyping is an independent factor for risk stratification in AML. *Cytometry B Clin Cytom* 2003 ; 53 (1) : 11-19.
2. Webber BA, Cushing M, Li S. Prognostic significance of flow cytometric immunophenotyping in acute myeloid leukemia. *Int J Clin Exp Pathol* 2008 ; 1 : 124-133.
3. Al-Malwali A, Gillis D, Hissaria P. Incidence, sensitivity and specificity of leukemia-associated phenotypes in acute myeloid leukemia using specific five-color multiparameter flow cytometry *Am J Clin Pathol* 2008 ; 129 : 934-935.
4. Legrand O, Perrot J-Y, Baudard M et al. The immunophenotype of 177 adults with acute myeloid leukemia : proposal of a prognostic score, *Blood* 2000 ; 96 : 870-877.
5. Graf M, Hecht K, Reif S, Pelka-Fleischer R, Pfister K, Schmetzer H. Expression and prognostic value of hemopoietic cytokine receptors in acute myeloid leukemia (AML) : implications for future therapeutical strategies. *Eur J Haematol* 2004 ; 72 : 89-106.
6. Spoo AC, Lubbert M, Wierda WG, Burger JA. CXCR4 is a prognostic marker in acute myelogenous leukemia. *Blood* 2007 ; 109 (2) : 786-791.
7. Wu S, Geßner R, von Stackelberg A, Kirchner R, Henze G., Seeger K. Cytokine/cytokine receptor gene expression in childhood acute lymphoblastic leukemia correlation of expression and clinical outcome at first disease recurrence. *Cancer* 2005 ; 103 (5) : 1054-1063.
8. Fortunel NO, Hatzfeld A, Hatzfeld JA. Transforming growth factor-beta : pleiotropic role in the regulation of hematopoiesis. *Blood* 2000 ; 96 : 2022-2036.
9. Lotem J, Sachs L. Cytokine control of developmental programs in normal hematopoiesis and leukemia. *Oncogene* 2002 ; 21 : 3284-3294.
10. Wendelbo Ř, Glenjen N, Bruserud Ř. Interleukin-7 (IL-7) in patients receiving intensive chemotherapy for acute myelogenous leukemia : studies of systemic IL-7 Levels and IL-7 responsiveness of circulating T lymphocytes. *J Interferon Cytokine Res* 2002 ; 22 (10) : 1057-1065.
11. Scholzel C, Lowenberg B. Stimulation of proliferation and differentiation of acute myeloid leukemia cells on a bone marrow stroma in culture. *Exp Hematol* 1985 ; 13 : 664-669.
12. Bendall LJ, Daniel A, Kortlepel K, Gottlieb DJ. Bone marrow adherent layers inhibit apoptosis of acute myeloid leukemia cells. *Exp Hematol* 1994 ; 22 : 1252-1260.
13. Matsunaga T, Takemoto N, Sato T et al. Interaction between leukemic-cell VLA-4 and stromal fibronectin is a decisive factor for minimal residual disease of acute myelogenous leukemia. *Nat Med* 2003 ; 9 : 1158-1165.
14. Bendall LJ, Kortlepel K, Gottlieb DJ. Human acute myeloid leukemia cells bind to bone marrow stroma via a combination of beta-1 and beta-2 integrin mechanisms. *Blood* 1993 ; 82 : 3125-3132.
15. Campbell JJ, Hedrick J, Zlotnik A, Siani MA, Thompson DA, Butcher EC. Chemokines and the arrest of lymphocytes rolling under flow conditions. *Science* 1998 ; 279 : 381-384.
16. Monaco G, Konopleva M, Munsell M et al. Engraftment of acute myeloid leukemia in NOD/SCID mice is independent of CXCR4 and predicts poor patient survival. *Stem Cells* 2004 ; 22 : 188-201.
17. Rombouts EJ, Pavic C, Löwenberg B, Ploemacher RE. Relation between CXCR-4 expression, Flt3 mutations and unfavorable prognosis of adult acute myeloid leukemia. *Blood* 2004 ; 104 (2) : 550-557.

18. Jordan CT, Upchurch D, Szilvassy SJ et al. The interleukin-3 receptor alpha chain is a unique marker for human acute myelogenous leukemia stem cells. *Leukemia* 2000 ; 14 : 1777-1784.
19. Feuring-Buske M, Frankel AE, Alexander RL, Gerhard B, Hogge DE. A diphtheria toxin-interleukin 3 fusion protein is cytotoxic to primitive acute myeloid leukemia progenitors but spares normal progenitors. *Cancer Res* 2002 ; 62 : 1730-1736.
20. Testa U, Riccioni R, Militi S et al. Elevated expression of IL-3Ra in acute myelogenous leukemia is associated with enhanced blast proliferation, increased cellularity, and poor prognosis. *Blood* 2002 ; 100 : 2980-2988.

NOUTĂŢI

METODE CHIRURGICALE MINIM INVAZIVE ŞI DERIVAŢI DIN MATRICEA SMALŢULUI ÎN TERAPIA PARODONTITELOR AGRESIVE LOCALIZATE

Parodontitele agresive localizate reprezintă o entitate distinctă în cadrul afecţiunilor parodontale şi se caracterizează prin defecte osoase verticale profunde care afectează molarii primi şi incisivii pacienţilor tineri. Terapia are ca scop reducerea microflorei patogene prin detartraj şi planare radiculară şi administrarea de antibiotice pe cale sistemică. Terapia chirurgicală parodontală combinată cu derivaţi din matricea smalţului au fost introduse ca metode de regenerare a ţesuturilor parodontale afectate şi au fost studiate în special în tratamentul parodontitelor marginale cronice. În cadrul unei prezentări de caz, realizată de un grup de cercetători germani, este descrisă terapia aplicată în cazul unui pacient de 27 ani, diagnosticat cu parodontită agresivă localizată. După terapia iniţială, ce a constat în detartraj, planare radiculară, administrare sistemică de amoxicilină şi metronidazol, defectele verticale au fost tratate prin metode chirurgicale minim invazive în asociere cu aplicarea de derivaţi din matricea smalţului. Datele clinice, microbiologice şi radiografice, raportate la 1,5 ani după terapia iniţială, au indicat o bună eficienţă a strategiei terapeutice şi o stabilitate a rezultatelor obţinute. (Kaner D, Bernimoulin JP, Kleber BM, Friedmann A. Minimally invasive flap surgery and enamel matrix derivative in the treatment of localized aggressive periodontitis : case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2009 ; 29 (1) : 89-97).

Irina Grădinaru

ALBUMINURIA - UN FACTOR PREDICTIV INDEPENDENT PENTRU DIABETUL DE TIP 2 LA SEXUL MASCULIN

Un studiu de cohortă prospectiv (The DESIR Study) a inclus 4074 de subiecţi, cu vârsta cuprinsă între 30 şi 64 de ani, fără diabet la includerea în studiu. După o supraveghere de 9 ani, 1 caz de diabet a apărut la 171 de subiecţi (132/2056 la sexul masculin şi 39/1795 la sexul feminin) din cei 3851 de pacienţi care au fost evaluaţi pe tot parcursul studiului. Albuminuria a fost asociată cu diabetul într-o relaţie de tip doză-dependentă,doar la pacienţii de sex masculin, riscul relativ (RR) fiind cuprins între 1,81 şi 4,43 în funcţie de valorile albuminuriei (în mg/l), după ajustarea pentru indicele de masă corporală, activităţi sportive, fumat, circumferinţă abdominală, insulinorezistenţă, profil lipidic şi antecedente familiale pentru diabet. Prin excluderea subiecţilor cu tulburări bazale de glicoreglare RR a crescut, fiind cuprins între 3,28 şi 9,23. În concluzie, existenţa unei albuminurii crescute pare a avea valoare predictivă pentru riscul de diabet de tip 2, la sexul masculin, independent de anomaliile biologice bazale, sau de existenţa unei insulinorezistenţe. (Halimi JM et al. Urinary albumin excretion is a risk factor for diabetes mellitus in men, independently of initial metabolic profile and development of insulin resistance. The DESIR Study. *J Hypertens* 2009 ; 2 : 98-106).

Al.D. Ciochină

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

USING MLPA FOR LARGE GENOMIC REARRANGEMENTS DETECTION IN BREAST CANCER PREDISPOSITION GENES

L. Negură[1], E. Carasevici[1], V. Artenie[2], Anca Negură[2]
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
School of Medicine
1. Department of Immunology
"Al.I. Cuza" University Iaşi
2. Biochemistry and Molecular Biology Laboratory

USING MLPA FOR LARGE GENOMIC REARRANGEMENTS DETECTION IN BREAST CANCER PREDISPOSITION GENES (Abstract): Breast and ovarian cancer are common pathologies in women, with increasing incidences worldwide. In hereditary breast and ovarian cancer (HBOC) families, a large percentage of cases are attributable to hereditary factors compatibles with dominant autosomal transmission of a major tumour suppressor gene with incomplete penetrance. Screening for BRCA1 mutations is now standard practice for HBOC cases in western world, and permits medical follow-up and genetic counselling. Over 300 BRCA1 germinal mutations are stored in the Breast Cancer Information Core (BIC) mutation database. **Material and methods**: Estimates in different countries range from 5 to 15% the BRCA1 related cases of hereditary breast cancer due to copy number changes of one or more exons of this gene. Exon deletions and amplifications will usually not be detected by sequence analysis of the complete BRCA1 gene, therefore MLPA screening is needed. **Results**: Here we describe Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification technique (MLPA) implementation for BRCA1 large genomic rearrangements. **Conclusions**: We did not detect any BRCA1 mutation by analysis of 15 HBOC recruited patients. **Key words**: BREAST/OVARIAN CANCER, HEREDITARY PREDISPOSITION, LARGE GENE REARRANGEMENTS, MLPA

Breast and ovarian cancer are very common pathologies in women, with increasing incidences worldwide including Romania (1,2,3). In hereditary breast and ovarian cancer (HBOC) families, a large percentage of cases are attributable to hereditary factors compatibles with dominant autosomal transmission of a major tumour suppressor gene with incomplete penetrance (4). Germinal mutations in BRCA1 gene are responsible for about 45% of families with increased incidence of breast cancer and of over 80% of families with significantly increased incidence of both early-onset breast and ovarian cancer (1). Screening for mutations in these two genes is now standard practice for HBOC cases in Western Europe and North America, and permits medical follow-up and genetic counselling adapted to the needs of individuals in such families. The consequences of germ-line mutation of either of the BRCA genes are serious: by 50 years of age, 45% of BRCA1 carriers and 20% of BRCA2 carriers will have already developed breast cancer, compared to about 3% of non-carriers (5). Over 300 BRCA1 and 200 in BRCA2 germinal inactivating mutations were found, most of them causing the lost of function by premature protein synthesis termination (6).

Homologous recombination between repetitive DNA sequences is esteemed to be the major cause of genetic instability generating deletions, duplications or rearrangements. The high density of Alu (42%) type repetitive sequences within BRCA1 gene, or of Alu (20%) and non-Alu (27%) repetitive sequences for BRCA2 gene, support hypothesis that those two genes could be susceptible to inactivation by homologous recombination (5). In the Netherlands, for example, more than 30 % of the BRCA1 related cases of hereditary breast cancer are due to copy number changes of one or more exons of this gene (7). The majority of these are due to two frequently occurring founder mutations: deletion of exon 13 or exon 22. Estimates in other countries are lower and range from 5 to 15 % (8). A wide variety of different exon deletions and duplications have been described (9). Exon deletions and amplifications will usually not be detected by sequence analysis of the complete BRCA1 gene. Known deletions and amplifications can be easily tested by PCR, but the number of different deletions is becoming prohibitively large. Analysis by MLPA is an easy to perform alternative that is also capable of detecting new deletions and amplifications, even when those large rearrangements represent 5% or less of BRCA1 inactivating mutations; in fact, MLPA targeted breast cancer susceptibility only within the last decade, in order to complete classical point mutations detection tests.

MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) is a multiplex PCR method detecting abnormal copy numbers of up to 50 different genomic DNA or RNA sequences, which is able to distinguish sequences differing in only one nucleotide (10). The MLPA technique is easy to use and can be performed in many laboratories, as it only requires a thermocycler and capillary electrophoresis equipment. Up to 96 samples can be handled simultaneously, with results being available within 24 hours. Using MLPA for copy number detection offers many advantages over other techniques. First of all, methods which were primarily developed for detecting point mutations, such as sequencing and DHPLC, generally fail to detect copy numbers changes. Southern blot analysis, on the other hand, will reveal many aberrations but will not always detect small deletions and is not ideal as a routine technique. Although well-characterised deletions and amplifications can be detected by PCR, the exact breakpoint site of most deletions is unknown. Furthermore, when comparing MLPA to FISH, MLPA not only has the advantage of being a multiplex technique, but also one in which very small (50-70 nt) sequences are targeted, enabling MLPA to identify the frequent, single gene aberrations which are too small to be detected by FISH. Moreover, MLPA can be used on purified DNA. Finally, as compared to array CGH, MLPA is a low cost and technically uncomplicated method. Although MLPA is not suitable for genome-wide research screening, it is a good alternative to array-based techniques for many routine applications.

The SALSA® MLPA® kit P002-C1 BRCA1 from MRC-Holland™ is designed to detect deletions/duplications of one or more sequences in the BRCA1 gene in a DNA sample. Heterozygous deletions of recognition sequences should give a 35-50% reduced relative peak area of the amplification product of that probe. Note that a mutation or polymorphism in the sequence detected by a probe can also cause a reduction in relative peak area, even when not locate exactly on the ligation site! In addition, some probe signals are more sensitive to sample purity and small changes in experimental conditions. Therefore, deletions and duplications detected by MLPA should always be confirmed by other methods. Not all deletions and duplications detected by MLPA will be pathogenic; users should always verify the latest scientific literature when interpreting their findings. Finally, note that most defects in this gene are expected to be small mutations which will not be detected by this MLPA test.

MATERIAL AND METHODS

HBOC families were recruited when three or more breast or ovarian cancer cases were diagnosed within the same family line. Situations with less then three cases were considered for cancer cases were diagnosed before age 40, for breast and ovarian cases in the same family, for breast cancers in men, for bilateral breast cancer cases and for any medullar breast cancer. All patients agreed by written informed consent. Familial anamneses were drawn and recruited patients were included on a BRCA study list.

Genomic DNA was extracted from 10 mL peripheral blood by optimization of the Wizard^{TM} Genomic DNA purification kit (Promega Inc, Madison, WI, USA). Two samples of 5 mL were processed in parallel, and DNA was eluted in 1 mL TE Buffer. After appropriate dilutions in 50 µL, DNA amount was estimated by spectrophotometry, using the DU800 spectrophotometer (Beckman Coulter Inc, Fullerton, CA, USA).

BRCA1 was also screened for large deletions and duplications by MLPA, using the SALSA® MLPA® Kit P002-B1 (MRC-Holland^{TM}, Amsterdam, the Netherlands). PCR was performed alternatively on thermocyclers as Mastercycler^{TM} Gradient (Eppendorf AG, Hamburg, Germany) or PalmCycler^{TM} (Corbett LifeSciences / Qiagen, Germantown, MD, USA). Capillary electrophoresis was performed on a CEQ8000 Genetic Analyser (Beckman Coulter Inc, Fullerton, CA, USA). Data was analysed with the CEQ8000 Fragment Analysis software and normalized with the Coffalyser® v9.4 (MRC-Holland, Amsterdam, the Netherlands).

RESULTS AND DISCUSSION

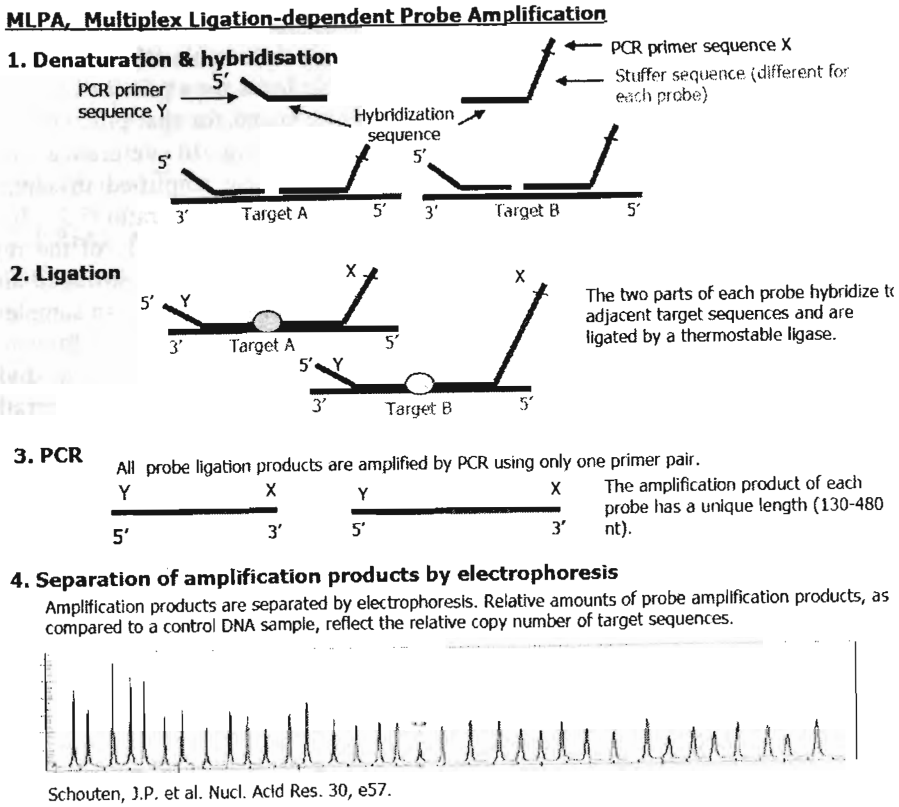
Principle of MLPA method

Within all mutations detection methods, the most accurate and precise is the full gene sequencing. Although longer and most expensive, DNA sequencing is sensitive enough to detect point heterozygous or homozygous mutations. Notwithstanding its precision, DNA sequencing cannot cover all mutation spectrum. Sequencing depends on amplification of the region of interest, and this amplification uses both alleles of an individual. In homozygous individuals one only sequence is detected (alleles are identical), whereas in heterozygous two different sequences are read. DNA sequencing is inefficient to detect those mutations (deletions, insertions, duplications, inversions) affecting large genomic DNA regions (at kilobases level), because in this case the region of interest is lacking for one allele and will not be amplified. The other wild-type allele will be amplified and sequenced, generating a general wild-type signal. In this context, large mutations can be hidden by sequencing of normal allele, and mutated patients (there are not BRCA homozygous mutants) can be diagnosed as normal. For this reason, information concerning large genomic rearrangements should always precede and complete DNA sequencing.

MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) is a multiplex-PCR based technique aiming the detection of copy number abnormalities and being able to detect sequences at a one nucleotide variation level (5). As a variant of a PCR reaction, MLPA permits amplification of several target regions using one unique universal primer pair. MLPA exists nowadays in over 50 variants designed for different syndromes or genetic aberrations. Typical for MLPA is that it is not target sequences that are amplified, but MLPA probes that hybridise to the target sequence. In contrast to a standard multiplex PCR, a single pair PCR primers is used for MLPA amplification. The resulting amplification products of a MLPA kit range between 130 and 480 nt in length and can be analysed by capillary electrophoresis. Comparing the peak pattern obtained to that of reference samples indicates which sequences show aberrant copy numbers.

The concept of MLPA lay on probes that are used, and that are conceived each one to hybridize a specific region of the gene. Each probe consists of a two synthesis oligonucleotides which recognise adjacent target sites on the DNA. Beside sequencer complementary to target DNA, probes also contain complementary sequences to primers. One probe oligonucleotide contains 5' the sequence recognised by the forward primer, the other one containing 5' the sequence recognised by the reverse primer. The 3' ends of the probes are complementary to target DNA, being adjacent one to another. Only when both probe oligonucleotides are hybridised to their respective targets, can they be ligated into a complete probe. Hence, amplification depends on adjacent hybridization of both probes, therefore on integrity of targeted sequence. The advantage of splitting the probe into two parts is that only the ligated oligonucleotides, but not the unbound probe oligonucleotides, are amplified. Each complete probe has a unique length, so that its resulting amplicons can be separated and identified by (capillary) electrophoresis. This avoids the resolution limitations of multiplex-PCR. Since the forward primer used for probe amplification is fluorescently labelled, each amplicon generates a fluorescent peak which can be detected by a capillary sequencer. Comparing the peak pattern obtained on a given sample with that obtained on various reference samples, the relative quantity of each amplicon can be determined. This ratio is a measure for the ratio in which the target sequence is present in the sample DNA. For instance, if one allele lacks for a precise DNA position, amplicon signal for that position will be at half comparing to reference amplicon signal (on allele amplified in sample, two alleles in reference – ratio 0.5). Inversely, duplications or polyploidy of the region of interest will generate a stronger amplicon signal in sample (3 alleles in sample an two alleles in reference – ratio 1.5).

The MLPA reaction can be divided in five major steps: 1) DNA denaturation and hybridisation of MLPA probes; 2) ligation reaction; 3) PCR reaction; 4) separation of amplification products by electrophoresis; and 5) data analysis (fig. 1). During the first step, the DNA is denatured and incubated overnight with a mixture of MLPA probes. MLPA probes consist of two separate oligonucleotides, each containing one of the PCR primer sequences. The two probe oligonucleotides hybridise to immediately adjacent target sequences (fig. 1 - step 1). Only when the two probe oligonucleotides are both hybridised to their adjacent targets can they be ligated during the ligation reaction (fig. 1 - step 2). Because only ligated probes will be exponentially amplified during the subsequent PCR reaction (fig. 1 - step 3), the number of probe ligation products is a measure for the number of target sequences in the sample. The amplification products are separated using capillary electrophoresis (fig. 1 - step 4). Probe oligonucleotides that are not ligated only contain one primer sequence. As a consequence, they cannot be amplified exponentially and will not generate a signal. The removal of unbound probes is therefore unnecessary in MLPA and makes the MLPA method easy to perform. Yet, we have to mention that some of the signals generated by probes are more sensitive than others to sample purety and to small variations in working conditions. For this reason,


MLPA, Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification
1. Denaturation & hybridisation
PCR primer sequence X
Stuffer sequence (different for each probe)
PCR primer sequence Y
Hybridization sequence
5'
3'
Target A
Target B
2. Ligation
X
Y
The two parts of each probe hybridize to adjacent target sequences and are ligated by a thermostable ligase.
3. PCR
All probe ligation products are amplified by PCR using only one primer pair.
The amplification product of each probe has a unique length (130-480 nt).
4. Separation of amplification products by electrophoresis
Amplification products are separated by electrophoresis. Relative amounts of probe amplification products, as compared to a control DNA sample, reflect the relative copy number of target sequences.

Schouten, J.P. et al. Nucl. Acid Res. 30, e57.

Fig. 1. The four steps necessary to perform a MLPA complete analysis (10)

deletions or duplications detected by MLPA should systematically be confirmed by other methods. Besides, not all BRCA1 duplications and deletions are pathogenic. Nonetheless, the majority of BRCA1 defects are single or few nucleotides levelled, being undetectable by MLPA, which is only a prescreening preceding complete gene sequencing.

The SALSA® MLPA® P002-C1 BRCA1 kit probemix contains 35 MLPA probes targeted to all BRCA1 exons, with amplification products between 127 and 463 nt. In addition, it contains 9 control fragments generating an amplification product smaller than 120 nt : four DNA Quantity fragments (Q-fragments) at 64-70-76-82 nt, three DNA denaturation control fragments (Dfragments) at 88-92-96 nt, one X-fragment at 100 nt and one Y-fragment at 105 nt. As laboratory equipment, MLPA requires a heated lid thermocycler and a capillary electrophoresis machine. In theory, 96 samples (including references and controls) can be processed simultaneously, in 0.2 mL PCR tubes or directy in 96 wells PCR plates. The Beckman Coulter CEQ8000 Genetic Analyser that we use has 8 capillaries and can therefore process 8 samples in a row. It requires a Cy-5 fluorescence of the forward universal primer.

Up to the capillary electrophoresis stage, all steps can be performed in a single thermocycler, with the following PCR program covering all MLPA (tab. I).

Interpretation of MLPA results

Raw data of capillary electrophoresis are taken up and analyzed in the first by the “Fragment Analysis” software of the CEQ8000 Genetic Analyser. Following this first analysis, data can be visualized and interpreted concerning amplification efficiency, presence of control probes, of ligation controls and of amplification controls. The kit contains, besides the BRCA1 probes, 9 reference probes targeted to other genes, with lengths situating them every 5 BRCA1 probes. Absence of any reference signals reveals a poor quality of starting DNA. For the traceability of the experiment, the kit also contains 4 Q probes and 3 D probes (fig. 2). Q probes do not require ligation to be amplified, being therefore the controls of amplification reaction. In normal conditions, Q pics should be more then 50% lower comparatively to D pics. D probes require ligation for the amplification to succeed, being therefore the controls of ligation reaction. Q pics should be visible only if less then 100 ng genomic DNA

TABLE I
PCR program covering MLPA

1) Hybridization reaction	1. 98°C – 5 minutes; 2. 25°C hold; 3. 95°C – 1 minute; 4. 60°C hold
2) Ligation reaction	5. 54°C hold; 6. 54°C – 15 minutes; 7. 98°C – 5 minutes; 8. 4°C hold
3) PCR reaction	9. 60°C hold; 10. 35 cycles of: 95°C – 30 seconds; 60°C – 30 seconds; 72°C – 60 seconds; 11. 72°C – 20 minutes; 12. 4°C hold

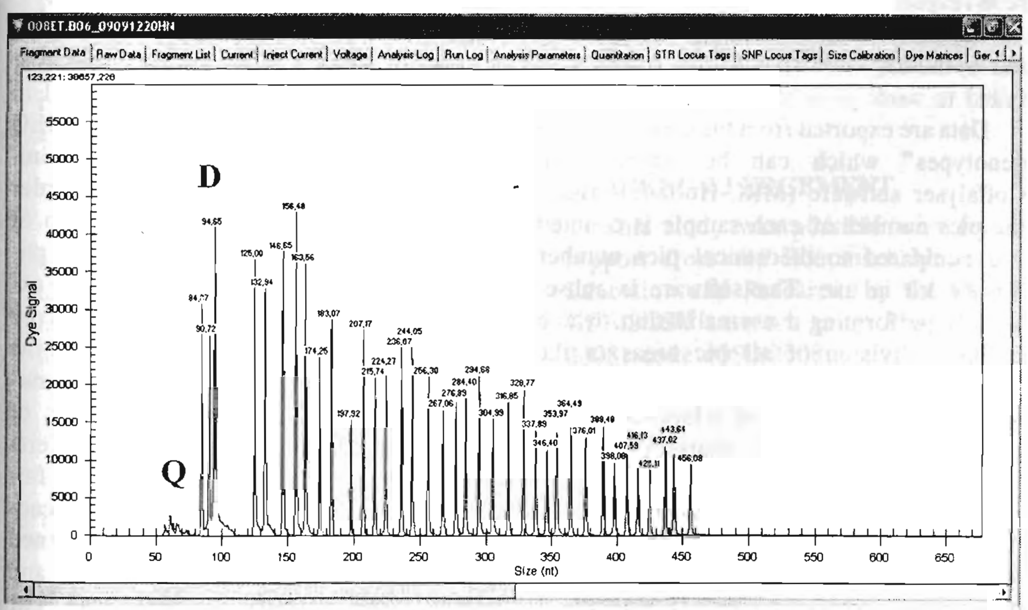
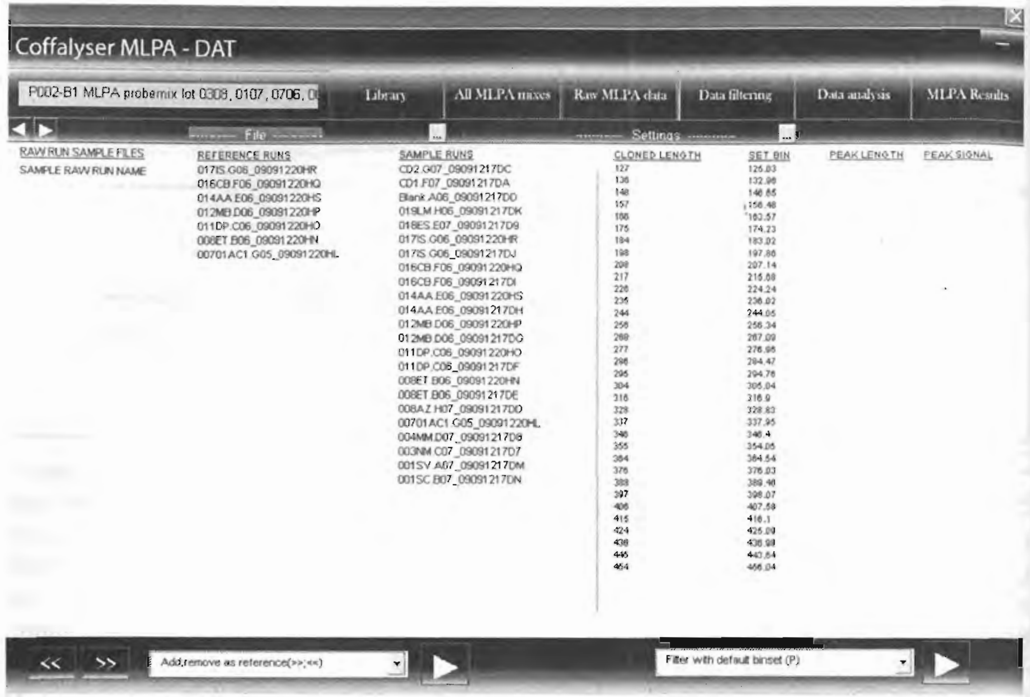

008ET.B06_09091220HN
Fragment Data
Raw Data
Fragment List
Current
Inject Current
Voltage
Analysis Log
Run Log
Analysis Parameters
Quantitation
STR Locus Tags
SNP Locus Tags
Size Calibration
Dye Matrices
D
Q
Dye Signal
55000
50000
45000
40000
35000
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
Size (nt)
0
50
100
150
200
250
300
350
400
450
500
550
600
650

Fig. 2. Preliminary analysis of one patient MLPA data, using the «Fragment Analysis» software of the CEQ8000 Genetic Analyser



P002-B1 MLPA probemix lot 0308, 0107, 0706, 0

RAW RUN SAMPLE FILES

SAMPLE RAW RUN NAME

REFERENCE RUNS

017IS.G06_09091220HR
016CB.F06_09091220HQ
014AA.E06_09091220HS
012MB.D06_09091220HP
011DP.C06_09091220HO
008ET.B06_09091220HN
00701AC1.G05_09091220HL

SAMPLE RUNS

CD2.G07_09091217DC
CD1.F07_09091217DA
Blank.A06_09091217DD
019LM.H06_09091217DK
018ES.E07_09091217D9
017IS.G06_09091220HR
017IS.G06_09091217DJ
016CB.F06_09091220HQ
016CB.F06_09091217DI
014AA.E06_09091220HS
014AA.E06_09091217DH
012MB.D06_09091220HP
012MB.D06_09091217DG
011DP.C06_09091220HO
011DP.C06_09091217DF
008ET.B06_09091220HN
008ET.B06_09091217DE
008AZ.H07_09091217DD
00701AC1.G05_09091220HL
004MM.D07_09091217D8
003NM.C07_09091217D7
001SV.A07_09091217DM
001SC.B07_09091217DN

CLONED LENGTH	SET BIN	PEAK LENGTH	PEAK SIGNAL
127	126.03		
136	132.96		
148	146.65		
157	156.48		
166	163.57		
175	174.23		
184	183.02		
198	197.86		
208	207.14		
217	215.68		
226	224.24		
236	236.02		
244	244.05		
256	256.34		
268	267.09		
277	276.96		
286	284.47		
295	294.76		
304	305.04		
316	316.9		
328	328.83		
337	337.95		
346	346.4		
355	354.05		
364	364.54		
376	376.03		
388	389.40		
397	398.07		
406	407.58		
415	416.1		
424	425.09		
438	436.98		
446	443.84		
464	466.04		

Add/remove as reference(>>;<<)

Filter with default binset (P)

Fig. 3. MLPA data analysis in the Coffalyser software

are used, whereas D pics should be as high as BRCA pics. Discrepancy in D pics highness reveals incomplete DNA denaturation. All these information are useful for pointing the re-starting step when MLPA experiment failed to work properly.

Data are exported from the CEQ as "CEQ genotypes" which can be imported in Coffalyser software (MRC-Holland). Here, the pics number of each sample is counted and compared to theoretical pics number for the kit in use. The software is subsequently performing a normalization, which means a division of all pic areas to the mean of pic areas obtained from reference runs. Arithmetic mean of references is obtained by importing in Coffalyser, together with sample genotypes, of at least 3 (1 for every 7 samples) reference MLPA analysis (healthy control individuals). The ratio between each sample pic area and mean reference pics area should be close to the 1 value. A ratio inferior to 0.5 denotes a possible deletion, whereas a ratio higher than 1.5 is indicative of a bigger copy number (insertion or duplication).

Coffalyser analysis consists of several successive steps. Firstly, the corresponding kit (SALSA® MLPA® kit P002-C1 BRCA1 in our case) is chosen from a list, and the CEQ genotypes (samples and references) are imported (fig. 3). The software is set in order to divide sample pic areas to the mean of reference pic areas. If the lengths of amplicons doesn't correspond to theoretical expected lengths, the problem is solved by manual correction, after visualization in the CEQ software, leaving however a 1-2 nucleotides tolerance. Following analysis of references and samples, the software alerts on problems as lack of control probes, failure of ligation or of amplification reactions, too little DNA quantity. Concerned samples are eliminated from the study, and normalization itself can be performed. For each sample individually, the results are

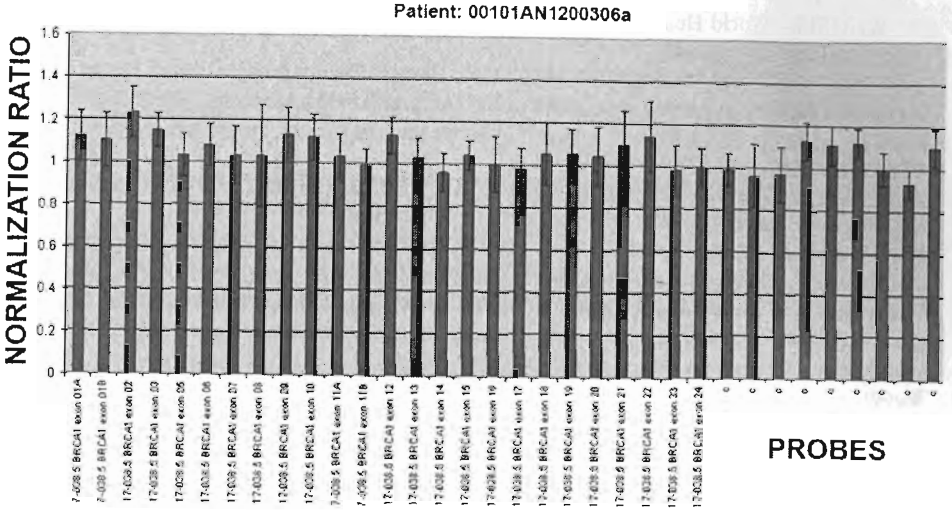


Fig. 4. MLPA results as normalization ratios

figures as a MS Excel diagram, where each ratio is represented as a vertical bar between 0.5 and 1.5 high (fig. 4).

Genomic DNA of 15 recruited patients was analysed by MLPA method, following producer's protocol as described earlier. 100 ng genomic DNA were used, and 3 ěL PCR product were performed in capillary electrophoresis. This analysis showed no visible obvious BRCA1 abnormality at the investigated patients. Uncertainties were reanalysed by a second MLPA run.

CONCLUSIONS

We showed here that MPLA is a reliable, efficient and relatively easy to perform mutational analysis, useful for the detection of large BRCA1 gene rearrangements like deletions or duplications of more then 1 exon, undetectable by classical mutation detection techniques or by DNA sequencing. However, as a multi-step molecular method, MLPA needed careful optimization of each stage, in order to avoid false results. As a diagnosis method, MLPA also needs confirmation on second independent samples, and especially by alternative methods. We did not detect any BRCA1 large genomic rearrangement by analysis of 15 HBOC recruited patients.

ACKNOWLEDGEMENT

This study was possible with financial support from the Romanian Ministry for Education and Research, by the CNCSIS-UEFISCSU research grant PN-II-ID-PCE-2008, code 1990/2008.

RÉFÉRENCES

1. Negură L, Humă AM, Artenie V, Carasevici E. Implication de certaines mutations dans les gènes BRCA1 et BRCA2 sur la prédisposition au cancer du sein et au cancer ovarien. *Analele Ştiinţifice ale Universităţii "Alexandru Ioan Cuza" Iaşi (Serie nouă). Secţiunea IIa. Genetică şi Biologie Moleculară* 2007 ; VIII (1) : 37-44.
2. *** Romanian Cancer League. Available from : http : //www.romaniancancerleague.org/en/index.php

3. *** WHOSIS - World Health Organization Statistical Information System. Available from : http : / /www.who.int/whosis/en/
4. King MC, Marks JH, Mandell JB, New York Breast Cancer Study Group. Breast and ovarian cancer risks due to inherited mutations in BRCA1 and BRCA2. *Science* 2003 ; 302 : 643-646.
5. Welcsh PL, King M-C. BRCA1 and BRCA2 and the genetics of breast and ovarian cancer. *Hum Mol Genet* 2001 ; 10 (7) : 705-713.
6. Walsh T et al. Spectrum of mutations in BRCA1, BRCA2, CHEK2, and TP53 in families at high risk of breast cancer. *JAMA* 2006 ; 295 (12) : 1379-1388.
7. Petrij-Bosch A, Peelen T, vanVliet M, vanEijk R, Olmer R et al. BRCA1 genomic deletions are major founder mutations in Dutch breast cancer patients. *Nat Genet* 1997 ; 17 : 341-345.
8. Unger MA et al. Screening for genomic rearrangements in families with breast and ovarian cancer identifies BRCA1 mutations previously missed by conformation-sensitive gel electrophoresis or sequencing. *Am J Hum Genet* 2000 ; 67 : 841-850.
9. Woodward AM et al. Large genomic rearrangements of both BRCA2 and BRCA1 are a feature of the inherited breast/ovarian cancer phenotype in selected families. *J Med Genet* 2005 ; 42 (5) : e31.
10. Schouten JP et al. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Res* 2002 ; 30 : e57.

NOUTĂŢI

O NOUĂ STRATEGIE ÎN DEPISTAREA PRIN EXAMENE TOMODENSITOMETRICE ÎN CANCERUL PULMONAR (STUDIUL NELSON)

Cercetători belgieni şi olandezi au întreprins un studiu randomizat, denumit NELSON (Nederlands-Leuvens Longkanker Screening Onderzoek), pentru evaluarea unei noi strategii de interpretare a imaginilor tomodensimetrice (scanări spiralate) în depistarea cancerului pulmonar. Prezenţa unui nodul necalcificat de peste 5 mm este determinantă pentru efectuarea de examene complementare în vederea confirmării sau infirmării diagnosticului de tumoră malignă ; studiul a luat în calcul nu diametrul formaţiunii, ci volumul acesteia, evaluat prin metode semiautomate, alături de determinarea vitezei de creştere a tumorii, evaluată la un interval de trei luni printr-un scanner de control. 7557 de subiecţi cu risc înalt de cancer pulmonar au beneficiat de 3 scanere spiralate succesive la 1, 2 şi 4 ani interval. După fiecare examen pacienţii au fost clasificaţi în *negativi* (absenţa leziunilor, sau prezenţa unei formaţiuni solide, necalcificate, cu diametrul <4,6 mm), *pozitivi* (diametrul lezional >9,8 mm), respectiv *intermediari* (volum tumoral cuprins între 50 şi 500 mm^3). Pentru pacienţii din ultima clasă explorarea complementară a fost ghidată de un scanner de control efectuat după 3 luni : cazul fiind considerat *negativ* dacă timpul de dublare a dimensiunilor tumorale a fost mai mic de 400 de zile, respectiv *pozitiv* dacă valoarea a fost mai mare. După primul scanner 79,2% din pacienţi au fost etichetaţi drept *negativi*, 1,6% *pozitivi* şi 19,2% *intermediari*. Din cei 196 de subiecţi consideraţi *pozitivi*, 80 au evoluat către un cancer pulmonar. Cu această strategie 2,6% dintre subiecţi au fost consideraţi *pozitivi* după scannerul din primul an şi 1,8% după scannerul din al 2-lea an, sensibilitatea testului fiind de 94,6%, cu o valoare predictivă de 99,9%. Această strategie de evaluare a permis reducerea semnificativă a numărului de explorări complementare fără a diminua sensibilitatea globală de depistare, prin comparaţie cu seriile de cazuri din literatură (van Klaveren R et al. Management of lung nodules detected by volume CT scanning. *N Engl J Med* 2009 ; 361 : 2221-2229).

Al.D. Ciochină

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

ŞTIINŢE FUNDAMENTALE

ARTICOLE ORIGINALE

EXPRESIA CA-125 ÎN UNELE TUMORI OVARIENE

Ramona Mircea[1], Doina Lucia Frîncu[1], F. Dumitrache[2]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Catedra de Ştiinţe Morfologice
2. Catedra de Obstetrică - Ginecologie şi Neonatologie

TUMORAL MARKERS IN OVARIAN CARCINOMA (Abstract) : Ovarian carcinoma is a heterogeneus disease. Pathologists classify it in serous, clear cell, endometrioid and mucinos subtypes. Each of these subtypes is associated with different genetic risk factors and molecular events during oncogenesis and it is characterised by distinct mRNA expression profiles. **Material and method** : We have studied 55 pacients with ovarian tumours who underwent surgery in Clinic „Elena Doamna", Iaşi between 2005-2008. CA-125 value was determined pre or postoperator. **Results** : We have investigated the relationship between tumoral type and CA125 value in all studied cases. **Conclusions** : By demonstrating the correlations between biomarker expression with stage or prognosis and by demonstrating the variation in expression rates between subtypes we offer persuasive evidence supporting the view that ovarian carcinoma subtypes are different diseases and the value of the biomarker is not always correlated with malignancy. **Key words** : OVARIAN CARCINOMA, BIOMARKER, IDEAL TUMORAL MARKER

Principalele grupe de markeri tumorali utilizaţi la ora actuală la nivel mondial (printre care se găsesc şi biomarkerii tumorilor ovariene) sunt : hormoni (HCG, calcitonina, glucagonul, insulina, tireoglobulina), enzime (fosfataza acidă prostatică, L-DH, gamma glutamil transpeptidaza, neuron specific enolaza), proteine oncofetale (antigenul carcinoembriologic, alfa fetoproteina), imunoglobulinele (sub forma unor antigene asociate tumorilor : CA-125, CA 15-3, CA19-9, PSA) (1,2).

Cel mai studiat marker al neoplaziilor ovariene este antigenul asociat cancerului de ovar *CA-125*. Acesta este un antigen de suprafaţă derivat din tumorile epiteliale seroase, fiind absent în cele mucinoase. Este o glicoproteină cu greutate moleculară mare, produsă de gena MUC16, ale cărei valori serice sunt crescute cu 10 luni-3 ani înainte de apariţia semnelor clinice (3,4).

CA-125 are valori mari în peste 90% din stadiile II, III şi IV şi doar în 50% în stadiile I. Această sensibilitate scăzută în stadiile precoce se datorează valorilor mari ale CA-125 în unele procese benigne (endometrioză, diverticulită, adenomioză, polifibromatoză, BIP, menstruaţie etc.). Valorile normale ale CA-125 sunt sub 34 U/mL, după alţi autori valori de peste 20, 30 sau chiar 40 U/mL fiind considerate patologice. Mai mult, un număr redus de femei pot avea valori mai mari de 35 U/mL în absenţa unui proces tumoral malign ovarian (5,6,7).

MATERIAL ŞI METODĂ

Lotul studiat de noi cuprinde 55 paciente tratate în Clinica Elena Doamna Iaşi în perioada 1 ianuarie 2005-1 ianuarie 2008. Au fost studiate date din foile de

TABELUL I

Repartiţia cazurilor pe ani şi pe intervale de valori CA-125

Anul	0-35 UI/mL	36-100 UI/mL	100-200 UI/mL	peste 200 UI/mL
2005	5	3	3	2
2006	4	1	0	1
2007	1	6	1	5
2008	15	3	0	6

observaţie clinică, protocoalele operatorii şi buletinele de anatomie patologică. Diagnosticul de cancer ovarian s-a pus pe baza simptomelor, examenului clinic, echografiei transabdominale şi endovaginale, analizelor hematologice care au inclus dozarea markerului CA-125 şi a fost confirmat de examenul anatomopatologic. Diagnosticul de invazie tumorală a fost stabilit în unele cazuri intraoperator prin observarea diseminărilor peritoneale şi a invaziei în uter şi trompele uterine. Diagnosticul de certitudine a fost stabilit după examenul anatomopatologic macroscopic şi microscopic.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Din totalul tumorilor ovariene diagnosticate în Clinica "Elena Doamna" Iaşi, în perioada 2005-2008, CA-125 a fost dozat la 55 de paciente, numărul fiind redus în comparaţie cu numărul cazurilor la care s-ar fi putut realiza acest examen. O explicaţie este nivelul socio-economic scăzut şi imposibilitatea clinicii de a include testul printre analizele obişnuite, datorită costurilor ridicate. Cea mai mare adresabilitate către testarea CA-125 a fost în anul 2008, când au fost realizate 24 de dozări.

Studiul de faţă ia în calcul doar procesele tumorale ovariene pentru care s-a realizat testarea CA-125. Sunt cuprinse în lotul de studiu doar pacientele la care avem rezultatul exprimat în foaia de observaţie. Cazuistica se extinde însă pe o perioadă de 10 ani, 1999-2008, fiind cuantificate toate procesele tumorale ovariene. Am redus lotul de paciente la 55, deoarece doar în aceste cazuri avem dovada sigură şi rezultatul dozării CA-125. Pe anii cuprinşi în studiul nostru, numărul tumorilor ovariene este mult mai mare ; astfel, în cei patru ani studiaţi au fost diagnosticate în total 150 tumori ovariene benigne, 5 tumori borderline şi 33 tumori maligne. De asemenea, nu s-au efectuat dozări ale CA-125 pe tumori din grupul fibrom-tecom, mixom ovarian, fibrom ovarian, tumori cu celule germinative.

Datele furnizate de foile de observaţie ale pacientelor au fost grupate în funcţie de valoarea CA-125 decelată (tab. I) şi în funcţie de tipul histologic al tumorii ovariene (tab. II).

În urma analizei lotului studiat am putut demonstra modificările CA-125 raportate la valoarea de referinţă, în cadrul proceselor tumorale ovariene. Astfel, în marea majoritate a tumorilor ovariene benigne (chistadenoame seroase, chistadenoame mucinoase, chisturi endometrioide) valorile CA-125 s-au situat în limite normale, în deplină concordanţă cu literatura de specialitate(5). Excepţie sunt doar două cazuri, cu componentă inflamatorie ridicată, la două paciente mari multipare la care s-au asociat şi alte patologii, unde valorile se situează puţin peste pragul de 35 UI/mL.

TABELUL II

Tipurile histologice de tumori ovariene pentru care s-a dozat CA-125

Tip histologic	Nr. cazuri
adenocarcinom seros	12
adenocarcinom mucinos	6
carcinom endometrioid	4
tumoră borderline	3
carcinom mixt	2
tumoră de granuloasă	1
MTS ovariene	2
struma ovarii	1
chistadenom seros	15
chistadenom mucinos	6
chist endometriotic	2
abces tuboovarian	1

Dozarea CA-125 pentru doar 55 din cele 188 procese tumorale ovariene tratate în clinică în perioada 2005-2008 poate fi atribuită nivelului socio-economic al ţării şi resurselor reduse din sistemul public de sănătate. Adresabilitatea la medic este în continuare redusă, acest fapt ducând la imposibilitatea realizării unui diagnostic într-un stadiu precoce, a unei metode de screening pentru femeile din grupele de risc şi a unei terapii chirurgicale de succes.

În cazul tumorilor maligne, valorile CA-125 înregistrează uneori creşteri spectaculoase, ajungând până la valoarea de 497,54 UI/mL în cazul unui adenocarcinom seros ovarian, diagnosticat în stadiul III FIGO. În cadrul grupului tumorilor maligne testate pentru CA-125 se observă o variaţie a valorilor determinate în funcţie de subtipul histologic al tumorii, stadiul de evoluţie al bolii în momentul diagnosticului şi statusul biologic al pacientei (alte afecţiuni asociate).

Prin analiza cazuisticii în funcţie de decadele de vârstă, se poate observa o adevărată explozie a neoplaziilor ovariene la vârste cuprinse în decada a III-a şi a IV-a de viaţă. Astfel, au fost decelate valori crescute atât pentru neoplazii incipiente (45,7 UI/mL), mergând până la 406,5 UI/ml în cazul unei paciente de 34 ani la care examenul histopatologic a stabilit diagnosticul de carcinom seros ovarian stadiul IIIc FIGO. De asemenea, în cazul unei paciente de 43 ani, pentru o valoare CA-125=280 UI/mL, examenul histopatologic a stabilit diagnosticul de carcinom ovarian endometrioid stadiul Ic FIGO. Din nefericire, în toate cazurile cuprinse în lotul de studiu diagnosticul s-a stabilit în stadii avansate de boală, decelându-se valori ale CA-125 peste 200 UI/mL.

Un aspect important de menţionat este variaţia valorilor CA-125 în cazul tumorilor ovariene. Au fost detectate valori crescute ale CA-125, peste titrul normal (37,72 UI/mL), iar în final diagnosticul anatomopatologic a fost de chist seros asociat cu un fibrom uterin ; sau la o valoare CA-125 =39,3 UI/mL diagnosticul histopatologic a fost de chistadenom seros ovarian. De asemenea, a fost întâlnită şi situaţia inversă, în care la valori normale ale CA-125, diagnosticul histopatologic a fost de tumoră ovariană cu potenţial malign scăzut (tumoră seroasă papilară borderline cu CA-125 =32,5 UI/mL) şi chiar de tumoră ovariană malignă (carcinom seros ovarian cu CA-125 =32 UI/mL).

Expresia profilului unui biomarker în cadrul unui anumit subtip histologic se modifică odată cu stadiul bolii (7,8). În cazul studiului de faţă nu a fost posibilă demonstrarea clară a unei diferenţe între valorile CA-125 în stadiile precoce şi cele tardive (datorită numărului redus de cazuri diagnosticate precoce), deoarece majoritatea tumorilor maligne au fost diagnosticate tardiv (valorile CA-125 în momentul diagnosticului depăşind 200 UI/mL). În 2006, un carcinom seros micropapilar în stadiul I a avut o valoare a CA-125=32 UI/ml, foarte aproape de limita superioară, în timp ce în 2007, un adenocarcinom seros ovarian stadiul II a avut o valoare a CA-125=406,7 UI/mL, iar în 2006 un carcinom seros stadiul III a avut o valoare CA-125=497,54 UI/mL. Nu doar carcinoamele seroase exprimă valori atât de ridicate ale CA-125, acest lucru fiind valabil şi pentru celelalte tipuri de neoplazii în stadiile foarte avansate, cu diseminare peritoneală şi ascită neoplazică (274 UI/mL şi chiar 320 UI/mL pentru un adenocarcinom mucinos ovarian G2 stadiul Ic).

Şi în studiul de faţă, conform cu literatura de specialitate, valorile cele mai mari ale CA-125 apar în cazul carcinoamelor

seroase (8). Şi în cazul carcinoamelor mucinoase şi endometrioide, valorile CA-125 în stadiile avansate depăşesc 200 UI/mL. Teratoamele mature şi cele specializate (struma ovarii) înregistrează creşteri situate până în limita de 100 UI/mL.

CONCLUZII

CA-125 se constituie într-un marker de diagnostic biologic unanim acceptat al cancerului ovarian. Deşi rolul său potenţial în detecţia timpurie a unui cancer de ovar este controversat, asocierea cu alţi markeri îl poate include totuşi în teste de screening pentru diagnosticul precoce.

Evaluarea creşterii titrurilor CA-125 au demonstrat nespecificitatea sa absolută prin variaţiile observate. Astfel, s-au înregistrat valori crescute în procese tumorale benigne şi valori situate în limite normale în procese tumorale maligne sau cu potenţial malign scăzut.

Valorile CA-125 s-au dovedit a fi diferite în cazul diverselor forme de cancer ovarian, cele mai mari valori apărând în cazul carcinoamelor seroase ovariene.

CA-125 poate fi considerat un marker pronostic al neoplaziilor ovariene, datorită diferenţelor între valorile detectate în stadiile precoce şi valorile foarte mari depistate în stadiile tardive.

BIBLIOGRAFIE

1. Benjamin E, Law S, Bobrow LG. Intermediate filaments cytokeratin and vimentin in ovarian sex cord-stromal tumours with correlative studies in adult and fetal ovaries. *J Pathol* 1987 ; 152 : 253-263.
2. Bigbee W, Herberman RB. Tumor markers and immunodiagnosis. In: Bast RC Jr., Kufe DW, Pollock RE et al. editors. *Cancer Medicine*. 6th ed. Hamilton: BC Decker Inc., 2003, 245-256.
3. Cavalieri EL, Frenkel K, Liehr JG, Rogan E, Roy D. Estrogens and endogenous genotoxic agents - DNA adducts and mutations. *S J Nat Cancer Inst Monographs* 2000 ; 75-93.
4. Dale AR, Lawrence PR. Angiogenesis in the ovary. *Rev Reprod* 1996 ; 1 : 182-192.
5. List K, Szabo R, Molinolo A, Nielsen BS, Bugge TH. Delineation of Matriptase protein expression bz enzymatic gene trapping suggests diverging roles in barrier function, hair formation and squamous cell carcinogenesis. *Am J Pathol* 2006 ; 168 (5) : 1513-1525.
6. Brinkhuis M, Baak JPA, Meijer PJ, Mogensen O, Bichel P, Neijt JP. Value of quantitative pathological variables as prognostic factors in advanced ovarian carcinoma. *J Clin Pathol* 1996 ; 49 : 142-148.
7. Fox H, Buckley CH. Tumors of the female genital tract. In: Fletcher CD. *Diagnostic Histopathology of Tumors*. vol 1. New York: Churchill Livingstone, 1995, 423-444.
8. Lu KH, Patterson AP, Wang L et al. Selection of potential markers for epithelial ovarian cancer with gene expression arrays and recursive descent partition analysis. *Clin Cancer Rez* 2004 ; 10 : 3291-3300.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

BIOGENIC AMINES DETERMINATION IN SOME ROMANIAN MEAT PRODUCTS

Nina Zamosteanu[1], Cristiana Filip[1], Luminiţa Jerca[1], Irina Albuţ[1], Rodica Cuciureanu[2]
"Gr.T. Popa"University of Medicine and Pharmacy Iaşi
School of Medicine
1. Department of Biochemistry
School of Pharmacy
2. Department of Environmental and Food Chemistry

BIOGENIC AMINES DETERMINATION IN SOME ROMANIAN MEAT PRODUCTS (Abstract): **Aim**: Biogenic amines are compounds synthesized in human body which in high concentration become toxic and lead to a wide range of symptoms as palpitations, nausea and headache. Meat products can contain high levels of biogenic amines. Ingestion of such product can cause severe illness. For these reason it becomes necessary to determine the biogenic amines levels in meat products. In our work we have determined the amount of some biogenic amines and the ration in which they are present in different type of fresh and processed meat products made by several producers. **Material and method**: Meat sample was homogenized with TCA 5%, than centrifuged at 4000 rpm and supernatant collected was eluted on a solid cartridge extraction. The extracted liquid was than analyzed on high performance liquid chromatography (HPLC) system in order to determine histamine, tyramine, cadaverine and putrescine. **Results**: Concentration of biogenic amines such as histamine, tyramine, cadaverine and putrescine, find in the foodstuffs we have analyzed, showed significant differences. **Conclusions**: Our study indicates the presence of biogenic amines in Romanian meat products and signals to the risk of food consumption, for persons which are allergic or for those under classical monoamine-oxidase inhibitor drug therapy. **Key words**: BIOGENIC AMINES, HISTAMINE, TYRAMINE, HPLC, MEAT PRODUCTS.

The quality of modern life is directly influenced by the quality of the foodstuffs and environment (water, soil, air). Foodstuffs become sometimes the cause of diseases because of an inappropriate intake, or through some biological agents, such as bacteria's, viruses or through some chemicals added in order to enhance the taste or just accidentally.

The compounds with a potential risk can be natural components of the products or they can results from the alteration of foodstuffs or they may be chemicals added with a specific purpose, in different amount, accepted by the health's law. A group of compounds that may be present in foodstuffs are biogenic amines.

Biogenic amines are compounds that appear in human metabolism (1,3) and which exert a wide number of physiological activities: regulation of the body temperature, regulation of blood pH and also maintaining the normal volume of the stomach. Depending on their concentration, biogenic amines can also become very toxic generating even death (4,5).

Biogenic amines are also present in food such as: milk, fish, beer, cheese, chocolate, red wine (6). The alteration of proteins, which are present in foodstuffs, as a result of microorganism activity, generates biogenic amines. Biogenic amines may also be generates by the technological procedure of foodstuffs preparation or conservation (7,8,9).

Because of their potential toxicity there is an increased interest in the quantification of biogenic amines in foodstuffs, in order to limit their concentration (10).

In our study we have determined the concentration and proportion in which histamine, tyramine, cadaverine and putrescine are found in some meat products, existing on the market, in Romania. We have determined the amines concentration using a chromatographic method.

MATERIALS AND METHODS

Sample preparation

Concentration of biogenic amines: histamine, tyramine, cadaverine and putrescine have been determined in 25 different types of fresh and processed meat, purchased on the Iasi markets. Sample preparation has been realized in two steps:

a. the extraction of biogenic amine from meat samples

b. the quantification of histamine, tyramine, cadaverine and putrescine by RP-HPLC with fluorescence detector.

a. The extraction of biogenic amines have been realized under the guide for analytical methods accepted by FDA (Food and Drug Administration, SUA); EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products on Evaluation of Medicines for Human Use) (11, 12). The procedure is as follows:

- 25 mL of TCA 5%, were added to 10 g meat product
- the mixture was mixed for 3 minutes, and than centrifuged at 4000 rpm, and the supernatant separated
- the procedure was applied twice
- the supernatant collected was eluted on a solid cartridge extraction (13)
- the extracted liquid was than analyzed on RP-HPLC and detected in fluorescence at 350 nm excitation and 460nm emission.

b. The quantification of extracted amines has been realized through a chromatographic method after a derivatisation procedure. O-phtalaldehide in the presence of 2-mercaptoethanol, was used as derivatisating agent.

We have used the method of Lange, Thomas and Wittmann (14) that we have modified (15).

At 1 ml of extracted fluid were added 0.2 mL of derivatisating mixture: 100 mg O-phtalaldehide, 10 mL boric acid (2.47g boric acid in 75 mL distilled water brought at pH 10,4 with potassium hydroxide 45%), 0.03 mL mercaptoethanol and 0.1 mL methanol. The mixture was allowed to rest for 1 minute and 20 mL were injected on the chromatograph.

Reagents

Reagents and chemicals were supplied by Fluka and were of HPLC purity: histamine (HI); tyramine (TYR); cadaverine (CAD); putrescine (PU); trichloracetic acid (TCA); mercaptoethanol (2-ME); o-phtalaldehide (OPA); methanol; boric acid; potassium hydroxide 45%; triethylamine 0.01%; sodium acetate 0.02M and 0.1M; acetic acid 2%; tetrahidrofurane 0.3%; acetonitrile; 1,7 diaminoheptan.

The HPLC system was on 1200 series model (Agilent Technologies).

Chromatographic conditions

The liquid chromatograph consisted of:

- column Lichrosorb RP 18 (250 mm x 4,6 mm. i.d.) (5 mm);
- mobile phase A: a mixture of 0.1 mL triethylamine and 800 mL sodium acetate 0.02M brought at pH 7.2 with acetic acid 2% at which 3 mL tetrahidrofuran were added and all brought at a final volume of 1000 mL distillated water;
- mobile phase B: sodium acetate 0.1M (brought at pH=7.2 with acetic acid 2%): acetonitrile : methanol: 200:400:400 (v/v/v);
- mobile phase contains a mixture with gradient volume of phase A and phase B. The flow of the mobile phase is 0.9 mL/min;
- the detection was in fluorescence at 350 nm excitation and 460 nm emission.

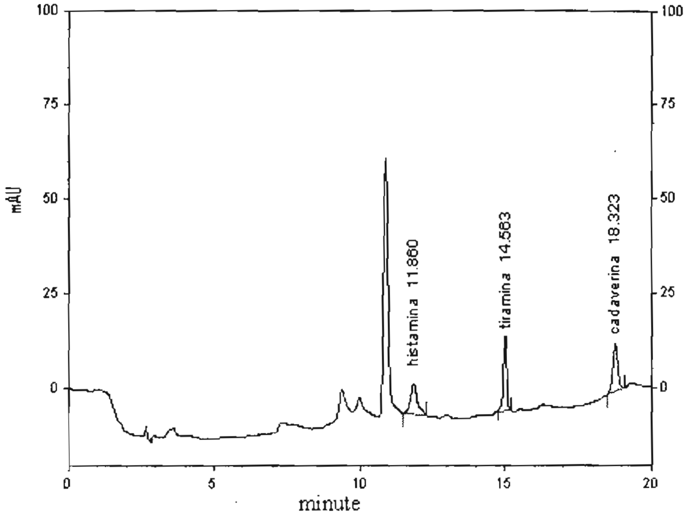


Fig. 1. Chromatogram obtained after elution of extracted sample of Sinaia Salami (sample nr 8).

RESULTS AND DISCUSSIONS

In order to determine biogenic amines concentration, the calibration curve for the mixture of histamine, tyramine, cadaverine and putrescine have been.

Specific chromatogram obtained after elution of extracted sample of Sinaia Salami (sample nr 8) prepared under the procedure presented above, is showed in fig. 1.

Retention times for the biogenic amine allow a good separation for individual amines from the mixture.

The amount of biogenic amines was determined in different type of meat and meat products through the chromatographic method proposed and expressed as mg of amine/kg of meat product. The obtained data are presented in table I.

Obtained data show that there are significant differences as concern the amount of biogenic amine and their distribution in each type of meat product.

Tyramine is presented in all the studied types of meat products in amount varying between 1.8 mg/kg and 162 mg/kg, The presence of tyramine is considered a consequence of the technological procedure that uses starter cultures for fermentation stage. It seems that the presence of other biogenic amines increases the harmful effect of tyramine on human health (16).

Histamine and cadaverine have been detected and quantified in 23 types from the total 25 types of sample meat in amounts varying from 1,4 mg/kg to 71 mg/kg, for histamine and from 0.8 mg/kg to125 mg/kg for cadaverine. Similar results for histamine were obtained by other authors, they determine concentration of biogenic amines from meat products consuming to other countries (17).

Putrescina was detected and quantified in 19 types from the total 25 types of meat sample in amounts varying from 1.3 mg/kg to 89 mg/kg.

Our data show that from all 25 types of products that were taken in our study, 4

TABLE I

The amount of each amine in the fresh meat and meat products samples purchased from the Romanian market (mg/kg)

Sample number	Histamine mg/kg	Cadaverine mg/kg	Tyramine mg/kg	Putrescine mg/kg
1 (fresh chicken meat)	ND	0.8	8.9	ND
2 (fresh fat pork meat)	32.7	1.3	4.8	3.2
3 (fresh lean pork meat)	2	3.5	2.1	ND
4 (bacon meat)	1.8	5.8	7.3	1.5
5 (fresh beef meat)	2.4	7.4	6.2	2.1
6 (spicy sausages)	1.4	1.8	58.4	18.2
7 (Sibiu salami)	64.7	125	111	89
8 (Sinaia Salami)	52	98	65	ND
9 (pork ham Premium)	71	34	73.8	12.5
10 (Polisch sausage)	1.6	18	57.6	7.2
11 (Sibiu salami)	21	14	79.8	78.7
12 (smoked loin)	6	24	44	58.5
13 (fermented pork sausage)	2.9	6.8	67.3	14.1
14 (traditional fermented pork ham)	4.2	44	162	68.3
15 (traditional smoked pork)	14	67.8	105.6	43.7
16(pastrami smoked pork)	32.4	98.3	78.2	21.4
17 (fermented sausage Baciu)	2.8	12.5	34.2	ND
18 (fermented sausage Luca)	8.2	18.5	12.4	14.8
19 (fermented sausage Chorizo)	3.6	5.9	37.4	ND
20 (sausage Victoria)	2	4.6	21.2	ND
21 (home sausage)	2.9	ND	33.5	3.7
22 (pork ham)	7	ND	4.3	11.2
23 (French sausage)	2.1	1.3	1.8	2
24 (chicken ham)	3.2	9.3	5	2.4
25 (pastrami smoked chicken)	ND	1.7	31.5	1.3

Legend: ND: undetectable

types contain both cadaverine and putrescine in an amount higher than 50 mg/kg concentration.

Meat products that contain high levels of biogenic amines are considered very harmful for the human health and especially for persons that are under medication with some drugs that act as inhibitors of monoamine-oxydases (18,21). In this regard people who are under medical treatment must be aware about the risk of consuming such technological prepared meat products.

CONCLUSIONS

The method we propose allows the individual determination of four biogenic amines: histamine, tyramine, cadaverine and putrescine in meat products or meat foodstuffs.

The concentration of biogenic amines find, in 25 different types of meat and meat products purchased from the Romanian market is wide spread from a less concentrations (0.8 mg/kg for cadaverine) to high concentrations (162 mg/kg for tyramine). The presence of these biogenic amines is caused either by the technical procedures of preparation which uses starter cultures for fermentation stage, or by other factors as conservation or store conditions.

Sensitive persons or those who are under medical treatment with monoamine-oxidase inhibitor drug must be aware about the risk of consuming such technological prepared meat products.

REFERENCES

1. Baixas NS, Bover S, Veciana-Nogues MT, Vidal-Carou MC. Amino acid-decarboxylase activity in bacteria associated with Mediterranean hake spoilage, *Eur Food Res Technol* 2003 ; 217 : 164-167.
2. Branicky R, Schafer WR. Tyramine : a new receptor and a new role at the synapse. *Neuron* 2009 ; 62 (4) : 458-460.
3. Wallace HM, Fraser A, Hughes A. A perspective of polyamine metabolism. *Biochem J* 2003 ;276 : 1-14.
4. Bedry R, Gabinski C, Paty MC. Diagnosis of scombroid poisoning by measurement of plasma histamine. *New Eng J Med* 2000 ; 342 : 520-521.
5. Thomas T, Thomas TJ. Polyamine metabolism and cancer. *J Cell Mol Med* 2003 ; 7 (2) : 113-126.
6. Shalaby AR. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Res Int* 1996 ; 28 : 675-690.
7. Silla Santos MH. Biogenic amines : their importance in foods. *Int J Food Microbiol* 1996 ; 29 : 213-231.
8. Suzzi G, Gardini F. Biogenic amines in dry fermented sausages : a review. *Int J Food Microbiol* 2003 ; 88 : 41-54.
9. Baixas NS, Bover S, Veciana-Nogues MT, Vidal-Carou MC. Effect of gutting on microbial loads, sensory properties, and volatile and biogenic amine contents of European hake (Merluccius merluccius var. mediterraneus) stored in ice. *J Food Prot* 2009 ; 72 : 1671-1676.
10. Broadley KJ, Achtar AM, Herbert AA, Fehler M, Jones EM, Davies VE, Kidd EJ, Ford WR, Effects of dietary amines on the gut and its vasculature, *Br J Nutr,*2009 ; 101(11) : 1645-1652.
11. Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation, U. S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, published in the Federal Register : volume 66, number 100, may 23rd, 2001 ;
12. Note for Guidance on the Investigation of Bioavailability and Bioequivalence, The European Agency for the Evaluation of of Medicinal Products, Committee for Proprietary Medicinal Products from july 26th, 2001.
13. Onal A. Current analytical methods for the determination of biogenic amines in foods, *Food Chem,* 2007 ; 103 : 1475-1486.
14. Lange J, Thomas K, Wittmann C. Comparison of a capillary electrophoresis method with high-performance liquid chromatography for the determination of biogenic amines in various food samples, *J Chromatogr B*, 2002 ; 779 : 229-239.
15. Zamosteanu N, Filip C, Gheorghita N, Moisuc L, Gramescu L, Cuciureanu R Validation of HPLC method for the quantification of biogenic amines in meat products *Rev Med Chir*,2008 ; 112(1) : 472-476
16. Komprdaa T, Neznalova J, Standarab S, Bover-Cidc S. Effect of starter culture and storage temperature on the content of biogenic amines in dry fermented sausage policˇan, *Meat Sc* 2001 ; 109 : 267-276.
17. Huseyn G, Kaban G, Aksu MI, Oz F,Kaya M, Determination of biogenic amines in sucuk, *Food Contr*,2008 ; 19 : 868-872.
18. Latorre-Moratalla ML,Veciana-Nogue T, Bover-Cid S,Garriga T, Aymerich E, Zanardi A, Ianieri MJ, Fraqueza L, Patarata EH, Drosinos A, Laukova R, Talon R, Vidal-Carou M, Biogenic amines in traditional fermented sausages produced in selected European countries. *Food Chem,* 2008 ; 107 : 912-921.
19. Edmondson DE, Mattevi A, Binda C, Li M, Hubaleka F, Structure and mechanism of monoamine oxidase, *Cur Med Chem*,2004 ; 11(15) : 1983-1993.
20. Chen M L, Chen C H, Chronic antipsychotics treatment regulates MAOA, MAOB and COMT gene expression in rat frontal cortex, *J Psych Res,* 2007 ; 41 : 57-62.
21. Tekes K, Magyar K, Effect of MAO inhibitors on the high-affinity reuptake of biogenic amines in rat subcortical regions, *Neurob*,2000 ; 8(2-4) : 257-264.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

ŞTIINŢE FUNDAMENTALE **ARTICOLE ORIGINALE**

EFFECTS OF DIETARY FLAXSEED SUPPLEMENTATION ON RENAL OXIDATIVE STRESS IN EXPERIMENTAL DIABETES

Raluca Haliga[1], Veronica Mocanu[1], Ioana Păduraru[2], B. Stoica[2], T. Oboroceanu[1], Veronica Luca[1]
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
School of Medicine
1. Department of Pathophysiology
2. Department of Biochemistry

EFFECTS OF DIETARY FLAXSEED SUPPLEMENTATION ON RENAL OXIDATIVE STRESS IN EXPERIMENTAL DIABETES (Abstract): Previous results demonstrate that experimental diabetes mellitus is accompanied by increased oxidant stress within glomeruli. Evidence are emerging that dietary flaxseed supplementation can have beneficial effects on oxidative stress. **Matherials and methods**: Diabetes was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ) in male Golden Syrian hamsters, and both diabetic and control groups were fed either standard diet, or standard diet supplemented with flaxseed (15 g/100 g diet), for 20 weeks. At the end of the study, blood samples and renal homogenates were used for determination of oxidative stress markers. **Results**: STZ-induced diabetes in hamsters substantially increased malondialdehyde levels along with corresponding decrease in the antioxidants levels. Supplementation of flaxseed resulted in the decrease in serum and renal homogenate malondialdehyde levels. The activities of antioxidant enzymes, total glutathione (tGSH) and superoxiddismutase (SOD) were also concomitantly raised to near normal levels by flaxseed supplementation diabetic hamsters. **Conclusion**: Dietary flaxseed supplementation in diabetes mellitus may have beneficial effects on diabetic nephropathy evolution by reducing the levels of oxidative stress and increasing the antioxidant defense systems. **Key words**: DIABETES MELLITUS, FLAXSEED, OXIDATIVE STRESS, DIABETIC NEPHROPATHY

Diabetes mellitus (DM) is recognized as one of the leading causes of morbidity and mortality in the world. An increased oxidative stress has been observed in diabetic patients, as indicated by high free radicals production (1). As a consequence of its microvascular pathology, diabetes causes glomerulopathy, nephropathy and ultimately renal failure (2).

A causal relationship between oxidative stress, endothelial cell dysfunction (ECD) and diabetic nephropathy has been established by observations that: high glucose can directly cause ECD and increases oxidative stress in glomerular mesangial cells, a target cell of diabetic nephropathy; lipid peroxides, markers of oxidative tissue injury, were increased in the kidneys of diabetic rats with albuminuria; oxidative stress induces mRNA expression of transcription Nuclear Factor kappa B (NFkB) genes, which in turn promotes production of proinflammatory proteins – tumor growth factor (TGF-B), fibronectin, laminin, elastin, interleukins (IL-1, IL-6), and platelet derived growth factor (PDGF); and inhibition of oxidative stress ameliorates the manifestations associated with ECD and diabetic nephropathy (3,4).

Flaxseed is the richest source of omega-3 fatty acid and lignans. Omega-3 fatty acid suppresses the production of interleukin-1 (IL-1), tumor necrosis factor (TNF) and leukotriene B4 (LTB4), and oxygen free radicals (OFRs) by polymorphonuclear leukocytes (PMNLs) and monocytes (5). Secoisolariciresinol diglucoside (SDG) is the major plant lignan isolated from flaxseed. Lignans are platelet-activating factor-receptor antagonists that would also inhibit the production of oxygen radicals by polymorphonuclear leukocytes. Experimental studies suggest that SDG had beneficial effects, by reducing hypercholesterolemic atherosclerosis, this effect being associated with a decrease in serum cholesterol, LDL-C, and lipid peroxidation product and an increase in HDL-C and antioxidant reserve (6).

The present study was designed to evaluate lipid peroxidation end products, such as serum and renal homogenate malondialdehyde (MDA) levels in diabetic hamsters with standard diet and in diabetic hamsters whose diets were supplemented with flaxseed. In addition to this, we measured renal antioxidant status, such as superoxide dismutase and reduced glutathione levels, in all groups.

MATERIALS AND METHODS

Diabetes was induced in overnight fasted male Golden Syrian hamsters using streptozotocin (STZ), freshly solved in citrate buffer (50 mM, pH 4.5) and administered intraperitoneally in a dose of 50 mg/kg body weight. Control hamsters received equivalent amounts of citrate buffer, intraperitoneally too. The hamsters were housed in stainless steel mesh cages in a room at 20 ± 2°C, with normal 12-hour light-dark cycles.

The level of glycemia was determined using an ACCU-CHEK glucometer, and hamsters with blood glucose more than 170 mg/dL after 72 h of STZ administration were considered as diabetics.

The diabetic and control hamsters groups were further divided into 4 groups (n-6):

- DM group with standard diet;
- DM group with standard diet supplemented with flaxseed (15 g% flaxseeds, rich in alpha-linolenic acid);
- Control group with standard diet;
- Control group with standard diet supplemented with flaxseed (15 g% flaxseeds).

Animals were sacrificed at 20 weeks after diabetes induction. Blood samples were collected and serum was separated by centrifugation at 3000 rot/min, for 20 minutes at 4°C. Serum samples were used for the determination of malondialdehyde (MDA) levels (7). The kidneys were immediately removed, rinsed with ice-cold phosphate buffer saline and homogenized. In renal homogenate, there were determined the following markers of oxidative stress:

- The thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) levels, measured as an index of malondialdehyde (MDA) production, by the TBARS assay (7);
- The total reduced glutathione (GSH) content was assessed by a kinetic enzymatic recycling assay (Ellman) (8);
- The superoxiddismutase (SOD) levels were determined by the Masayasu Minami method (9);
- The levels of renal concentrations of proteins were determined by the Bradford protein assay kit, from Sigma Diagnostic (10).

STATISTICAL ANALYSIS

The results are expressed as means ± standard deviation. Analysis of variance (One-Way ANOVA) was used to asses the significance for each parameter among the experimental groups. The *t* Test was employed to determine the *p* values. The level of statistical significance was taken as $p < 0.05$.

RESULTS

Serum concentrations of MDA were increased by induction of diabetes, as compared to the control group. Dietary supplementation of flaxseed in DM significantly

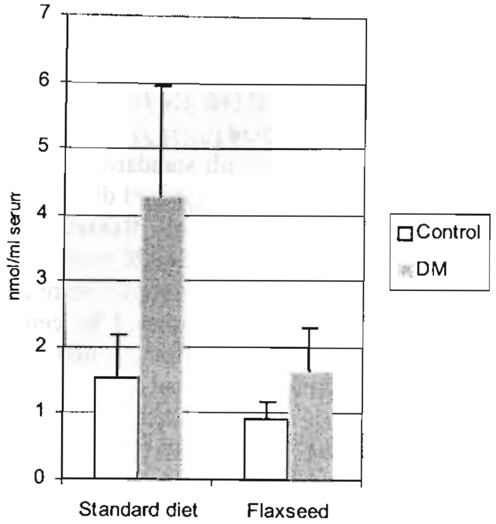


Fig. 1. Effects of dietary supplementation of flaxseed on serum MDA in normal and diabetic hamsters

reduced these levels (p<0.001) (fig.1).

The results concerning the oxidative stress markers in renal homogenate are presented in table I. The levels of MDA in renal homogenate were increased in diabetic group, as compared to the control group hamsters. Increased concentrations of renal MDA were lowered by flaxseed supplementation in diabetic group, without a statistical significance. Analysis of MDA in renal homogenate and serum samples has found a statistic significant difference (p<0.001) in DM group supplemented with flaxseed compared to DM group with standard diet.

The levels of antioxidant enzymes SOD and GSH in renal homogenate were increased in flaxseed supplemented diabetic group as compared to diabetic group, suggesting that flaxseed may increase antioxidant protection in diabetic conditions (tab. I).

DISCUSSIONS

The source of free radicals in DM is not understood in detail, but glycation of proteins can lead to oxidative stress by direct release of $O_2^{\bullet -}$ and H_2O_2 and activation of phagocytes through a specialized receptor for advanced glycation end products (11). The levels of reactive oxygen species are controlled by antioxidant enzymes, namely superoxid dismutase (SOD), glutathione-peroxidase (GSH-Px), and non-enzymatic scavengers like reduced GSH, vitamin E, selenium, beta-caroten and coenzyme Q (12).

Oxidative stress is implicated in the pathogenesis of chronic complications of DM, including diabetic nephropathy. There are few studies concerning the effects of flaxseed supplementation on renal oxidative stress and development of nephropathy in diabetes.

Phytoestrogens are naturally occuring plant compounds that are present primarily in flaxseed as lignans. Nutritional intervention studies have shown that consumption of flaxseed reduces proteinuria and attenuates renal functional or structural damage in animals and humans with various forms of chronic renal disease (13).

MDA is one of the lipid peroxidation products frequently used to determine the oxidant/antioxidant balance in diabetic patients. There are contradictory results in literature about serum MDA levels in diabetic patients. In our study, serum concentrations of MDA were greatly increased in diabetic hamsters as compared to control group, and significantly reduced by flaxseed supplementation. In addition, as shown in Table I, renal homogenate concentrations of MDA were increased when we induced diabetes. Dietary supplementation of flaxseed in DM reduced renal MDA.

In hyperglycemic conditions, glucose is preferentially used in the polyol pathway that consumes NADPH, which is necessary for GSH regeneration by the glutathione reductase enzyme. Hyperglycemia is therefore indirectly the cause of GSH depletion. As GSH is an important molecule, its depletion leads to the increase of oxidative stress (12). We have shown that flaxseed supplementation increased antioxidant protection in diabetic conditions, as shown by the raise of antioxidant enzymes SOD and GSH in renal homogenate. Thus, dietary supplementation of flaxseed induced important changes on oxidative stress markers in STZ-induced diabetic hamsters.

These results are consistent with those of other studies on oxidant/antioxidant status in diabetes and seem to suggest that dietary flaxseed may play a role in improving abnormal oxidative stress in diabetic hamsters (6,14,15).

Because of their structural similarity to endogenous estrogens, phytoestrogens bind to both estrogen receptors (ER)-alpha and beta (more strongly to ER-beta) and exert estrogen-like effects. The biological actions of lignans have been well defined in different cell types in vitro and also in vivo, but how these compounds might reduce renal injury remains to be elucidated. Possible mechanisms include inhibition of cell growth and proliferation via ER-mediated mechanisms or non-ER-mediated pathways through inhibition of tyrosine protein kinases, modulation of growth factors involved in extracellular matrix synthesis and fibrogenesis, inhibition of cytokine-induced activation of transcription factors, inhibition of angiogenesis, antioxidative action, suppression of platelet activating factor and platelet aggregation, and immunomodulatory activity (13).

TABLE I

Effects of dietary supplementation of flaxseed on renal homogenate concentrations of MDA, SOD and GSH in normal and diabetic hamsters

Measures in renal homogenate	Control (C)	C + Flaxseed (CF)	p value	Diabetes (D)	D + F (DF)	p value
MDA (nmoL/mg protein)	0.141±0.016	0.118±0.006	**0.037**	0.147±0.024	0.142±0.017	0.69
SOD (U/mg protein)	0.077±0.020	0.176±0.018	**0.0003**	0.124±0.035	0.154±0.042	0.21
GSH (μM/mg protein)	0.013±0.005	0.026±0.005	**0.0139**	0.029±0.014	0.037±0.024	0.525

Values are shown as means ± SD.

CONCLUSIONS

Our results suggest that dietary supplementation with flaxseed to standard diet of diabetic hamsters might reduce the incidence and progression of diabetic nephropathy through decreasing oxidative stress and increasing antioxidant protection.

AKNOWLEDGEMENTS

The study was financially supported by ENRECO, Manitowoc, USA and by the Nutrigrup Association, Iaşi, Romania. The authors also thank to Mihail Axinte and Ioan Nestian from Fitotechny Department, School of Agronomics Iaşi, for providing the flaxseeds.

REFERENCES

1. Seghrouchni I, Drai J, Bannier E et al. Oxidative stress parameters in type I, type II and insulin-treated type II diebetes mellitus; insulin treatment efficiency. *Clin Chim Acta* 2002; 321: 89-96.
2. Simionescu M, Sima A, Popov D. Toward understanding the mechanisms of impeded vascular function in the diabetic kidney. In: *Cellular Dysfunction in Atherosclerosis and Diabetes.* Bucureşti: Ed. Romanian Academy Publishing House, 2004, 244-255.
3. Nuhad I, Bryan B, Piotr S, Eberhard R. Perspective in renal medicine: renal disease and hypertension in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Kid Int* 1999; 55: 1-28.

4. Mshelia DS. Role of free radicals in pathogenesis of diabetic nephropathy. *Ann African Med* 2004 ; 3 (2) : 55-62.
5. Prasad K. Dietary flaxseed in prevention of hypercholesterolemic atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1997 ; 132 (1) : 69-76.
6. Prasad K. Reduction of serum cholesterol and hypercholesterolemic atherosclerosis in rabbits by secoisolariciresinol diglucoside isolated from flaxseed. *Circulation* 1999 ; 99 (10) : 1355-1362.
7. Dobrian AD, Davies MJ, Schriver SD et al. Oxidative stress in a rat model of obesity-induced hypertension. *Hypertension* 2001 ; 6 : 554-560.
8. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound and nonproteic sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem* 1968 ; 25 : 192-205.
9. Minami M, Koshi K, Homma K et al. Changes of the activities of superoxide dismutase after exposure to the fume of heavy metals and the significance of zinc in the tissue. *Arch Toxicol* 1982 ; 49 (3-4) : 215-225.
10. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976 ; 72 : 248-254.
11. Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidative resistance of lipoproteins. *Clin Chim Acta* 2001 ; 306 : 1-17.
12. Paşaoglu H, Sancak B, Bukan N. Lipid peroxidation and resistance to oxidation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Tohoku J Exp Med* 2004 ; 203 : 211-218.
13. Ranich T., Bhathena SJ, Velasquez MT. Protective effects of dietary phytoestrogens in chronic renal disease. *J Ren Nutr* 2001 ; 11 (4) : 183-193.
14. Prasad K et al. Oxidative stress as a mechanism of diabetes in diabetic BB prone rats : effect of secoisolariciresinol diglucoside (SDG). *Mol Cell Biochem* 2000 ; 209 (1-2) : 89-96.
15. Prasad K et al. Secoisolariciresinol diglucoside from flaxseed delays the development of type 2 diabetes in Zucker rat. *J Lab Clin Med* 2001 ; 138 (1) : 32-39.

NOUTĂŢI

INFLUENŢA TIMPULUI DE FOTOACTIVARE ASUPRA COLONIZĂRII BACTERIENE A SUPRAFEŢELOR RĂŞINILOR COMPOZITE

Colonizarea bacteriană a suprafeţei răşinilor compozite utilizate pentru obturaţie coronară reprezintă unul din factorii cei mai importanţi în etiologia cariei secundare marginale a restaurărilor adezive. Cantitatea de monomer rezidual de pe suprafaţă pare să influenţeaze formarea biofilmului bacterian la acest nivel. Studiul a evaluat biomasa aderentă la suprafaţa unei răşini compozite, fotoactivate cu aceiaşi sursă luminoasă, timp de 10, 20, 30, 40, 60, respectiv 80 s, la 400 respectiv 800 mW/cm^2. Testul a fost efectuat in vitro utilizând o tulpină izolată de streptococ mutans, cultivată timp de 24 de ore, iar tehnica de cuantificare a avut la bază un test colorimetric. Analiza statistică a demonstrat că indiferent de puterea aplicată, au existat diferenţe semnificative în funcţie de timpul de fotoactivare. În ambele situaţii a existat o tendinţă crescută semnificativă ($p < 0{,}0001$) de reducere a colonizării odată cu creştere timpului de expunere la sursa de fotoactivare. Reducerea timpului de fotoactivare pare a fi responsabilă pentru creşterea in vitro a colonizării suprafeţei răşinii compozite cu streptococi mutans, fenomen ce pare legat de prezenţa monomerului nepolimerizat pe suprafaţa materialului. Această ipoteză are o relevanţă clinică semnificativă. Creşterea timpului de expunere la sursa de fotoactivare ar putea diminua riscul cariei secundare marginale în jurul restaurărilor de compozit (Brambilla E, Gagliani M, Ionescu A, Fadini Garcia-Godoy F. The influence of light-curing time on the bacterial colonization of resin composite surfaces. *Dent Mat* 2009 ; 25 (9) : 1067-1072).

Gianina Iovan

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

ŞTIINŢE FUNDAMENTALE **TEHNICI ŞI METODE**

OPTIMIZAREA UNOR TEHNICI DE BIOLOGIE MOLECULARĂ PENTRU DIAGNOSTICUL INFECŢIILOR CU VIRUSURI PAPILLOMA UMANE

Ramona Gabriela Ursu[1], M. Onofriescu[2], D. Nemescu[2], Luminiţa Smaranda Iancu[1,3]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Disciplina de Microbiologie
Spitalul Clinic de Obstetrică - Ginecologie "Cuza-Vodă" Iaşi
2. Clinica I Obstetrică Ginecologie
3. Institutul de Sănătate Publică Iaşi

OPTIMISATION OF SOME MOLECULAR TECHNIQUES FOR DIAGNOSIS OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS INFECTIONS (Abstract) : Objectives : optimisation of Real Time PCR technique for quantifying oncogenic types 16 and 18 of Human Papilloma Viruses, genotyped through classic PCR, followed by hybridisation. **Material and method** : DNA/HPV was purified with *High Pure PCR Template Preparation* kit (*ROCHE DIAGNOSTICS*®), genotyping was performed with *Linear Array HPV Genotyping* (*ROCHE DIAGNOSTICS*®) and PCR reaction was realized with ABI 9700 Gold Plate System. Absolute quantification of HPV 16 and 18 was performed with *Path-HPV16/18 Real-time PCR detection kit for Human Papillomavirus, 2 x Precision TM Mastermix* kits (*PrimerDesign*®), and the instrument used was MX3000P STRATAGENE. **Results** : I. HPV genotyping was optimised through testing of 12 cervical samples, collected from patients who have signed the informed consent approved by the local Bioethical Committee. Among the tested samples, 5 were negative for any HPV type, 3 patients had unique infections with oncogenic HPV type, and 2 patients had multiple infections, with oncogenic and non-oncogenic HPV types. Negative and positive controls were validated, identical as the internal control - beta globin gene. II. Absolute quantification for HPV 16 and 18 were performed on two samples tested by the previous method. The number of viral copies was determined using the standard curves procedure, whose parameters values were between the accepted limits. **Conclusions** : We fulfilled the quality criteria for both techniques : genotyping assay and viral load quantification by Real Time PCR. This allows us to start the study for monitoring persistent infections with HPV 16 and HPV 18. **Key words** : HR HPV, GENOTYPING, REAL TIME PCR

Virusul Papilloma Uman (HPV - *Human papilloma Virus*), unul dintre cei mai frecvenţi agenţi etiologici transmişi pe cale sexuală (1) este recunoscut a fi absolut "necesar" pentru dezvoltarea cancerului cervical, alături de alţi co-factori (contraceptive, sarcini multiple, alte infecţii din sfera genitală) (2,3). Studii de epidemiologie moleculară au identificat peste 100 genotipuri HPV, care au fost clasificate în genotipuri cu risc înalt oncogen (HR HPV - *High Risk HPV types*) şi cu risc scăzut oncogen (*Low Risk HPV types*), în funcţie de potenţialul lor de a induce neoplazia cervicală (4).

Genotiparea HPV poate fi realizată prin multiple metode ; acestea diferă prin numărul de genotipuri detectate şi prin tehnica utilizată. De exemplu, metoda *Hybrid Capture* detectează genotipurile înalt oncogene ca o sumă de genotipuri, fără să le diferenţieze (5). Alte kituri oferă posibilitatea identificării diferitelor genotipuri: e.g. *PapilloCheck* identifică 24 genotipuri HPV (7), *INNO LiPA*, 26 genotipuri HPV (1), iar testul *Linear Array*, 37 genotipuri (5). Identificarea HR HPV este necesară deoarece s-a observat că infecţia persistentă (definită ca fiind prezenţa unui genotip HR HPV mai mult de 12 luni) cu aceste genotipuri permite transformarea către leziunile cervicale cu risc înalt de evoluţie către neoplazia cervicală (6). Prezenţa unui genotip HPV cu risc înalt oncogen nu trebuie considerată, *per se*, un motiv de alarmă; aceasta ar trebui să conducă către o investigaţie mai atentă, realizată prin repetarea testării ADN/ HPV, pentru verificarea persistenţei infecţiei, care este într-adevăr un factor de risc pentru proliferarea leziunii (7). Alţi autori susţin legătura dintre încărcătura virală ridicată de HR HPV şi leziuneşe cervicale mai avansate. Majoritatea autorilor au determinat încărcătura virală prin *Real Time PCR*, care este o tehnică foarte sensibilă, deoarece poate detecta câteva cópii virale în produsul patologic (8,9,10).

MATERIAL ŞI METODĂ

I. *Linear Array Genotyping Test* (LA - ROCHE DIAGNOSTICS) este un test calitativ, *in vitro,* care detectează genotipurile HPV în celulele cervicale. Testul permite identificarea a 37 genotipuri HPV: 13 genotipuri cu risc înalt oncogen (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68) şi 24 genotipuri cu risc oncogene intermediar şi scăzut. Stripurile prezintă şi două benzi pentru beta globină (*low* şi *high*), respectiv martorii pentru recoltarea, purificarea şi amplificarea corectă a ADN / HPV.

Testul *Linear Array HPV Genotyping* a presupus 4 etape:

1. *Recoltarea produselor patologice* de la nivelul colului uterin s-a realizat cu ajutorul periuţelor *Cervex Brush* care se descarcă în recipientele pentru transportul probei (*ThinPrep PreservCyt Solution*). Kitul *High Pure PCR Template*, Roche, a fost utilizat pentru purificarea ADN/HPV.

2. *Amplificarea PCR :* testul *LA HPV Genotyping* utilizează primeri biotinilaţi care definesc o secvenţă de nucleotide din regiunea polimorfică L1 a genomului HPV (450 perechi de baze) şi un primer adiţional pentru gena beta globină.

3. *Reacţia de hibridizare*: după amplificarea prin PCR, ampliconii HPV şi de beta globină sunt chimic denaturaţi şi formează un singur lanţ de ADN, prin adăugarea soluţiei de denaturare. Ampliconii sunt transferaţi în godeurile corespunzătoare din tăviţa de hibridizare iar cei care se vor fixa de biotină, vor hibridiza doar când probele conţin secvenţele complementare.

4. *Reacţia de detecţie* presupune mai multe spălari şi incubări: în prezenţa peroxidului de hidrogen, streptavidina fixată, catalizează oxidarea tetrametilbenzidinei (TMB) către formarea unui complex albastru, care precipită unde a fost relizată hibridizarea. Stripul este citit vizual prin compararea benzilor cu şablonul din kitul *LA HPV Genotyping Test*.

II. Cuantificarea prin *Real Time PCR*

Quantificarea HPV 16 şi 18 a fost realizată utilizând kiturile *Path-HPV16 Real-time PCR detection kit for Human Papillomavirus, Path-HPV18 Real-time PCR detection kit for Human Papillomavirus, 2 x Precision ™ Mastermix, PrimerDesign*, cu ajutorul instrumentului Real Time PCR - STRATAGENE, MX3000P.

Mixul de primer/probe pentru patogenul specific (HPV 16/18) poate fi detectat prin canalul FAM (6-carboxifluoresceină) şi utilizează principiul "*TaqMan*". Kitul contine un control pozitiv, un control negativ şi un control intern de extracţie al ADN. Cuantificarea în timp real a fost realizată într-un volum final de reacţie de 15 μL (10 μL 2 x *Precision ™ Mastermix*, 1.0 μL mix primer - probe pentru patogen, 1.0 μL mix primer - probe pentru controlul intern de extracţie şi 3.0 μL apă de uz biomolecular). Pentru cuantificarea HPV/16 şi HPV/18, curbele standard au fost realizate cu ajutorul controlului pozitiv: 2 - > 2 x 10^5 copii/tub. Amplificarea prin RT PCR a fost realizat conform instrucţiunilor: activarea enzimei Hotstart (10 min la 95°C) a fost urmată de 50 de cicluri care au presupus câte o etapă de denaturare (15 sec/95°C) şi de colectarea datelor prin canalul FAM (60 sec/60°C).

REZULTATE

I. Genotiparea cu *Linear Array HPV Genotyping test*

Din 12 probe genotipate, 5 au fost negative, 5 probe au fost pozitive (3 au prezentat infecţie unică cu HR HPV - cu genotipurile 16, 31 respectiv 68), iar 2 probe au prezentat infecţie multiplă, cu HR HPV şi LR HPV (33, 54, 81, 52/33/35/58 şi 18, 53, 54). Controlul pozitiv a prezentat benzi pentru HPV 16, beta globină *high* şi *low* (stripul 11). Controlul negativ nu a prezentat nici o bandă (strip 12). Beta actina (ambele benzi - cu intensitate joasă şi crescută) a fost prezentă pe toate stripurile testate (fig. 1).

II. Cuantificarea HPV 16 şi HPV 18 prin *Real Time PCR*

Au fost cuantificate prin *Real Time PCR* două dintre probele testate prin genotipare, pozitive pentru HPV 16, respectiv HPV 18.

1. Pacienta H.L., 29 ani, diagnosticată cu HSIL, HPV/16 pozitiv. Parametrii curbei standard: eficienţă - 117,7% (90 % - 110%), precizie - 0,974 (0,985 - 1,00). Prin optimizarea curbei standard s-a obţinut o eficienţă de 99,2 % (90% - 110%) şi o precizie de 0,999 (0,985 - 1,00) (fig. 2).

2. Pacienta V.D., 23 ani, pozitivă pentru HPV 18, 53 şi 54. Parametrii pentru curba standard generată de soft-ul instrumentului RT PCR au fost următorii: eficienţă: 93,9% (90% - 110%); precizie: 0,997 (0,985 - 1,00). Cuantificarea acestei probe a fost realizată şi pentru a verifica dacă nu au fost acumulaţi prea mulţi inhibitori ai amplificării prin PCR, utilizând controlul

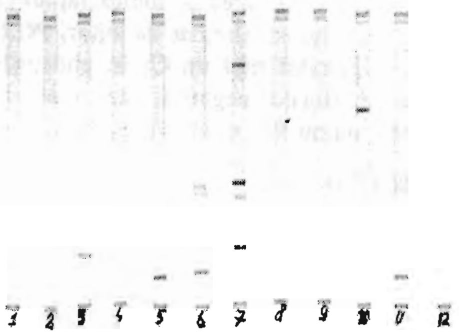


Fig. 1. Rezultatele optimizării genotiparii HPV cu *Linear Array HPV Genotyping Test*

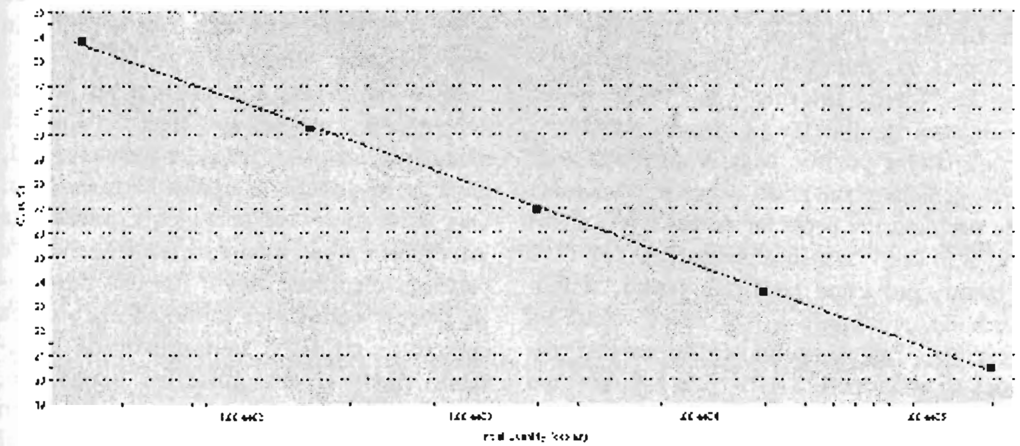
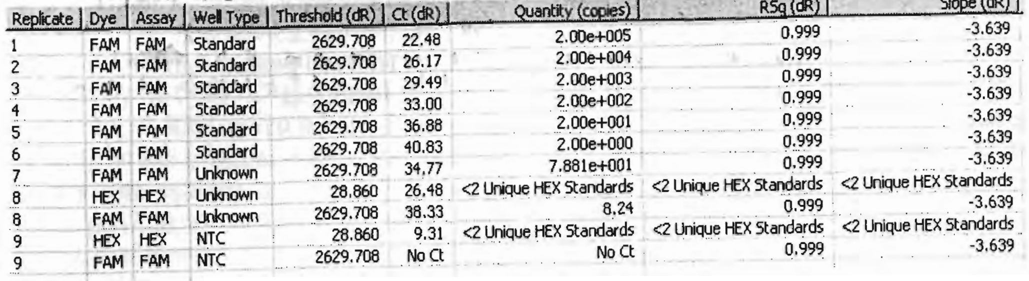


Fig. 2. Curba standard pentru HPV 16 realizată din 5 controale

TABELUL I

Standarde şi probe utilizate în experiment, cu valorile corespunzătoare obţinute



Replicate	Dye	Assay	Well Type	Threshold (dR)	Ct (dR)	Quantity (copies)	RSq (dR)	Slope (dR)
1	FAM	FAM	Standard	2629.708	22.48	2.00e+005	0.999	-3.639
2	FAM	FAM	Standard	2629.708	26.17	2.00e+004	0.999	-3.639
3	FAM	FAM	Standard	2629.708	29.49	2.00e+003	0.999	-3.639
4	FAM	FAM	Standard	2629.708	33.00	2.00e+002	0.999	-3.639
5	FAM	FAM	Standard	2629.708	36.88	2.00e+001	0.999	-3.639
6	FAM	FAM	Standard	2629.708	40.83	2.00e+000	0.999	-3.639
7	FAM	FAM	Unknown	2629.708	34.77	7.881e+001	0.999	-3.639
8	HEX	HEX	Unknown	28.860	26.48	<2 Unique HEX Standards	<2 Unique HEX Standards	<2 Unique HEX Standards
8	FAM	FAM	Unknown	2629.708	38.33	8.24	0.999	-3.639
9	HEX	HEX	NTC	28.860	9.31	<2 Unique HEX Standards	<2 Unique HEX Standards	<2 Unique HEX Standards
9	FAM	FAM	NTC	2629.708	No Ct	No Ct	0.999	-3.639

intern de extracţie al ADN. Curba standard: eficienţă înaltă - 93,5% (90% - 110%); precizie bună - 0,997 (0,985 - 1,00). Controlul intern de extracţie al ADN a fost pipetat doar în godeurile B9-10 şi C9-10; valoarea Ct-ului citit cu HEX (535 - 555 nm) a fost de 26,48 şi s-a încadrat în limite normale (26 ± 3), ceea ce indică faptul că experimentul nu a acumulat inhibitori PCR. Nu s-a evidenţiat nici un Ct în godeurile destinate martorilor negativi, deci, reactivii şi probele nu au fost contaminate (tab. I).

DISCUŢII

Deşi include mai multe etape realizate manual, de la extracţia ADN la interpretarea rezultatelor, testul *Linear Array HPV Genotyping* a permis genotiparea specifică, sensibilă şi reproductibilă a HPV. Infecţiile cu HPV au fost unice (cu genotipurile 16, 31 respectiv 68) sau multiple (cu HR HPV şi LR HPV: 33, 54, 81, 52/33/35/58 şi 18, 53, 54), iar intensităţile benzilor au variat de la "foarte puternic" la "foarte slab". Validarea rezultatelor a presupus verificarea controalelor pozitiv, negativ şi a beta actinei, la fiecare rundă de amplificare. Durata de prelucrare a probelor cu acest test a fost de 9,5 ore. Imaginea scanată a celor 12 stripuri procesate confirmă faptul că tehnica de genotipare a fost corect efectuată (fig. 1). Unii autori au utilizat aceeaşi tehnica de genotipare a HPV, prin LA, asa cum este prevazut în indicaţiile de lucru ale producătorilor (11,12); alţi cercetători au recurs la anumite modificări ale protocolului de genotipare. Jeronimo et al. au modificat procedura de genotipare a HPV amplificând 10 μL ADN/HPV purificat, în loc de 50 μL, aşa cum prevede protocolul de lucru. Această modificare a dus la detecţia de genotipuri adiţionale de HPV, precum şi la semnale de intensitate mai ridicată decât cele obţinute cu valorile standard. De menţionat însă că acest experiment a utilizat pentru extracţie kitul *QIAamp MinElute medium* (13). Alţi doi autori care au utilizat acelaşi test de genotipare au realizat citirea şi interpretarea stripurilor cu ajutorul unor sisteme automatizate (*AutoChemi imaging system*, respectiv *Linear Array Image Analysis Software* LAIAS), ceea ce le-a permis reducerea timpului necesar interpretării rezultatelor genotipării. In general se recomandă ca citirea stripurilor să se facă imediat după terminarea hibridizării, când sunt încă umede şi prezintă benzi mult mai bine definite, în special pentru semnalele slabe (1,13).

Cele 12 cazuri analizate nu au permis deocamdată aprecieri statistice, dat fiind că obiectivul nostru a fost, în această etapă, punerea la punct a metodei de genotipare. Dar chiar şi în aceste condiţii, prevalenţa infecţiilor cu genotipuri înalt oncogene este ridicată (respectiv, 50%). Această informaţie trebuie corelată cu faptul că majoritatea infecţiilor cu HPV sunt tranzitorii la femeile tinere şi doar infecţiile persistente, detectabile doar prin genotipare, sunt un important factor de risc pentru cancerul cervical (14). Datele epidemiologice furnizate de testul de genotipare oferă informaţii şi despre distribuţia genotipurilor HPV, ceea ce poate avea un impact important asupra strategiei de vaccinarea anti-HPV ca şi în eventuala schimbare a profilului epidemiologic al HPV. Chiar dacă se iniţiază o campanie de vaccinare eficientă anti-HPV, eradicarea infecţiei va fi dificilă din cauza infecţiilor asimptomatice. De aceea, se urmăreşte detectarea infecţiei cu HPV în stadii incipiente, prin testarea de biomarkeri specifici, în vederea intervenţiei terapeutice cât mai precoce şi stoparea evoluţiei spre cancer.

CONCLUZII

În vederea optimizării tehnicilor de laborator care urmează a fi implementate în Laboratorul de Virusologie al Disciplinei de Microbiologie a Facultăţii de Medicină, pentru diagnosticarea infecţiilor cu HPV, am obţinut rezultate care întrunesc criteriile de validare impuse de protocoalele de lucru. Pentru testul de genotipare, validarea a fost obţinută prin calitatea martorilor pozitiv şi negativ, precum şi prin prezenţa benzilor de beta globină, *high* şi *low*, pentru toate stripurile testate. Cuantificarea prin Real Time PCR pentru genotipurile înalt oncogene, incluse şi în formula vaccinală, respectiv HPV/16 şi HPV/18 a fost cea de-a doua metodă optimizată, deoarece parametrii curbei standard (eficienţa, precizia pipetării, reproductibilitatea, înclinarea pantei) s-au încadrat în limitele normale. Absenţa amplificării în godeurile martorilor negativi şi Ct-urile pentru controlul intern de extracţie a permis validarea experimentul, deoarece face din dovada lipsei contaminării. Aceste rezultatele preliminare demonstrează circulaţia genotipurilor înalt oncogene, studiile ulterioare urmând a fi efectuate pe loturi lărgite, în vederea interpretărilor statistice şi a precizării acelei valoari prag a încărcăturii virale pentru genotipurile HPV/16 şi HPV/18, în vederea adoptării celei mai adecvate conduite terapeutice.

MULŢUMIRI

Studiul a fost realizat graţie grantului CNCSIS, ID_1642, director de proiect - Prof. Univ. Dr. Luminiţa Smaranda Iancu.

BIBLIOGRAFIE

1. Dobec M, Bannwart F, Kaeppeli F, Cassinotti P. Automation of the linear array HPV genotyping test and its application for routine typing of human papillomaviruses in cervical specimens of women without cytological abnormalities in Switzerland. *J ClinVirol* 2009; 45: 23-27.
2. Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002; 55: 244-265.
3. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189: 1-3.
4. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 518-527.
5. *** WHO & IARC. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenetic Risks to Humans, Human Papillomaviruses*. vol. 90. Lyon: IARC, 2007.
6. *** *WHO Comprehensive Cervical Cancer Control - A Guide to Essential Practice*. Geneva: WHO, 2006.
7. zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nature Rev Cancer* 2002, 2: 343.
8. van Duin M, Snijders PJF, Meijer CJLM. Human Papillomavirus 16 load in normal and abnormal cervical scrapes; an indicator of CIN II/III and viral clearance. *Int J Cancer* 2002; 98 (4): 590-595.

9. Snijders PJF, Hesselink AT, Meijer CJLM. Determination of viral load thresholds in cervical scrapings to rule out CIN 3 in HPV 16, 18, 31 and 33-positive women with normal cytology. *Int J Cancer* 2006; 119: 1102-1107.
10. Hesselink AT, Meijer CJLM, Snijders PJF. High-risk human papillomavirus DNA load in a population-based cervical screening cohort in relation to the detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer. *Int J Cancer* 2009; 124: 381-386.
11. Castle PE, Carolina Porras, Quint WG. Comparison of two PCR-based human papillomavirus genotyping methods. *J Clin Microbiol* 2008; 46 (10): 3437-3445.
12. Jamison J, Wilson RT, Carson J. The evaluation of human papillomavirus genotyping in cervical liquid-based cytology specimens; using the Roche Linear Array HPV genotyping assay. *Cytopathol* 2009; 20: 242-248.
13. Jeronimo J, Wentzensen N, Long R, Schiffman M. Evaluation of linear array human papillomavirus genotyping using automatic optical imaging software. *J Clin Microbiol* 2008; 46 (8): 2759-2765.
14. Brismar-Wendel S, Froberg M, Hjerpe A, Andersson S, Johansson B. Age-specific prevalence of HPV genotypes in cervical cytology samples with equivocal or low-grade lesions. *Br J Cancer* 2009; *101* (3): 511-517.

NOUTĂŢI

UTILIZAREA CARDIOVERTER-DEFIBRILATORULUI IMPLANTABIL DUPĂ INFARCTUL MIOCARDIC ACUT

Rata de deces în perioada imediat post infarct miocardic (incluzând şi moartea subită cardiacă) rămâne crescută. Ghidurile actuale nu recomandă, însă, utilizarea unui cardioverter-defibrilator implantabil (DCI) pentru prevenirea morţii subite cardiace decât în termen de 40 zile de la accidentul coronarian. Un grup de cercetători au studiat ipoteza conform căreia pacienţii cu risc crescut care sunt trataţi precoce cu DCI supravieţuiesc mai mult decât cei care primesc numai tratament medicamentos optimal. Acest studiu s-a realizat în cadrul unui trial multicentric randomizat prospectiv, deschis, IRIS (The Intermediate Risk Stratification Improves Survival). Lotul a fost format din 62944 pacienţi cu infarct miocardic cu sau fără supradenivelare de segment ST. Obiectivul primar al studiului a fost evaluarea mortalităţii generale la cele 2 grupe, iar cel secundar evaluarea morţii subite de cauză cardiacă şi non cardiacă. 898 pacienţi au fost înrolaţi în intervalul de 5 până la 31 zile de la evenimentul coronarian pe baza unor criterii de includere: (1) fracţia de ejecţie a ventriculului stâng ≤40% şi frecvenţa cardiacă ≥90/min la o primă ECG disponibilă, (2) tahicardie ventriculară nesusţinută 150/min la monitorizarea Holter. Au fost realizate 2 grupuri de studiu - 445 pacienţi au primit tratament DCI iar 453 doar tratament medicamentos. În ce priveşte rezultatele pe o perioadă medie de urmărire de 37 luni s-au înregistrat 233 decese, mai puţine cazuri de moarte subită în grupul DCI faţă de grupul de control, însă numărul de decese de cauză non-cardiacă a fost crescut. Studiul a condus la concluzia conform căreia terapia profilactică cu DCI nu reduce mortalitatea generală la pacienţii cu infarct miocardic acut, deşi riscul de moarte subită se reduce, observaţie care necesită studii suplimentare cu utilizarea unor algoritmi mai fideli de identificare a factorilor de risc şi strategii noi terapeutice dincolo de orientările actuale (Steinbeck G, Andresen D, Seidl K et al. Defibrillator implantation early after myocardial infarction. *NEJM* 2009; 361: 142-146).

Iuliana Frasilă

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

MEDICINĂ PREVENTIVĂ - LABORATOR **ARTICOLE ORIGINALE**

STUDIU TRANSVERSAL DE EVALUARE A EVOLUŢIEI ŞI A UNOR FACTORI DE RISC LA COPILUL NĂSCUT PREMATUR

Laura Florescu[1,2], Mioara Matei[3,4], Genoveva Bălănică[1], Doina Azoicăi[3,4]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1 Disciplina Puericultură
2 Secţia Clinică Recuperare Pediatrică
3 Disciplina Asistenţă Primară a Stării de Sănătate şi Epidemiologie
4 Unitatea de Epidemiologie Clinică Iaşi

CROSS-SECTIONAL STUDY TO EVALUATE EVOLUTION AND RISK FACTORS IN PREMATURE CHILDREN (Abstract): Prematurity represents an important medical problem due to the increased incidence and complex treatment measures. **Material and method**: We have made a cross-sectional study to evaluate the causes and risk factors of prematurity and after-birth evolution in 652 premature children. **Results**: Most children had mothers of low socio-economic status (70.1%), from the countryside (70.5%), housewives (82.8%), elementary educational level (67.7%). The age of pregnancy at the beginning of the observation was significantly different in the town environment in comparison to the countryside ($p<0.05$). There was needed emergency life support at birth for 63.2% of the premature newborns and hospitalization in Intensive Care for respiratory distress for 77.6%. Intense icterus required phototherapy in 92% of preterm newborns. Epidemiologic survey proved bacterial colonization in 72.6% of the infants, mostly nasal (24.5%). There was noticed an increased percentage of bottle-fed infants (63.6%), but regardless of the feeding method, the weight increase was proper. **Conclusion**: The improvement of perinatal care allowed the increase in the survival rate of premature infants, but there is needed a more serious medical surveillance in order to reduce the number of preterm births. **Key words**: PRETERM NEW-BORN, RISK FACTORS, PREMATURE CARE

Prematuritatea, prin incidenţa crescută, ce variază între 5% - 25% (în ţările dezvoltate, respectiv în curs de dezvoltare) reprezintă o importantă problemă medico-socială. În ţara noastră incidenţa este de aproximativ 15 - 19% (Raportul UNICEF - România 2005), iar în Statele Unite ale Americii de 12 - 13% (1). Îmbunătăţirea îngrijirilor perinatale a permis creşterea ratei de supravieţuire a nou - născuţilor prematur, limita viabilităţii situându-se în prezent la o valoare a greutăţii la naştere de 500 g (2).

Cauzele declanşatoare ale naşterii premature pot fi clasificate în trei mari categorii:

- complicaţii ale sarcinii (preeclampsia, sarcina multiplă, decolarea prematură de placentă normal inserată, hemoragia antepartum, diabetul zaharat profund dezechilibrat, întârzierea severă în creşterea intrauterină etc.);
- ruptura prematură spontană a membranelor (premature rupture of membranes PROM), secundară, cel mai frecvent, infecţiilor;
- travaliul prematur declanşat spontan cu membrane intacte (3, 4).

Cei mai frecvenţi factori de risc ai naşterii premature sunt reprezentaţi de:

- factori materni: vârsta, patologia ginecologică şi obstetricală, alte afecţiuni acute şi cronice, intoxicaţii cronice (tabagism, alcoolism, droguri) (5);
- factori fetali: anomalii cromosomiale, malformaţii, infecţii cronice (TORCH: Toxoplasmosis, Other, Rubella, Cytomegalovirus, Herpes simplex), întârziere în creşterea intrauterină (IntraUterin Growth Retardation - IUGR) (6);
- factori socio-economici: status socio-economic scăzut, nivel redus de educaţie, efort fizic (3).

Studiul de faţă are drept scop evaluarea acestor cauze şi factori de risc la un lot de copii născuţi prematur.

MATERIAL ŞI METODĂ

S-a efectuat un studiu retrospectiv, pe o perioadă de 5 ani (octombrie 2003 – octombrie 2008), pe un lot de copii prematuri, internaţi în Secţia Recuperare Pediatrică a Spitalului Clinic de Urgenţă pentru Copii "Sfânta Maria" Iaşi. Toţi cei 652 de copii incluşi în lot au avut o vârstă gestaţională (VG) mai mică de 37 de săptămâni şi o greutate la naştere mai mică de 2500 g.

Din foile de observaţie au fost selectate informaţiile referitoare la antecedentele heredo-colaterale, antecedentele personale fiziologice şi patologice, precum şi cele referitoare la evoluţia în secţie a acestor copii. Prelucrarea statistică a datelor obţinute s-a realizat cu ajutorul programelor SPSS 16 şi EpiInfo 3.5.1. (2008), pentru un prag de semnificaţie statistică de 5% şi un interval de încredere de 95%.

REZULTATE

Majoritatea copiilor născuţi prematur au provenit din mame din mediul rural (459 - 70,5%), cu un nivel socio - economic scăzut (456 - 70,1%), nivel educaţional elementar (441 - 67,7%), casnice (539 - 82,8%), căsătorite (341 – 52,4%). Vârsta mamelor a fost cuprinsă între 13 şi 44 de ani, cu o valoare medie de 27 ani. Din antecedentele obstetricale ale mamelor s-a remarcat un număr crescut de avorturi, de până la 20, cu o medie de 8.

În lotul studiat 332 dintre sarcini (51%) au fost luate în evidenţă în primele 4 luni, iar prelucrarea statistică prin testele ANOVA şi Bartlett a arătat că vârsta sarcinii la luarea în evidenţă diferă semnificativ în mediul urban faţă de cel rural ($p<0,05$). De asemenea, am observat că 1/3 dintre sarcini nu au fost dispensarizate, procentul cel mai ridicat înregistrându-se în mediul rural (68,3%). Cele mai multe naşteri (576 - 88,5%) au fost în maternitate, dar se remarcă un procent ridicat al naşterii neasistate la domiciliu (51 - 7,8%).

Majoritatea naşterilor s-au produs pe cale naturală (534 - 82%), în prezentaţie craniană (514 - 79%), iar dintre cele la care s-a efectuat operaţie cezariană, cele mai multe (92,3%) au avut indicaţii terapeutice ($p<0,05$). Naşterea prematură s-a produs la o vârstă gestaţională cuprinsă între 23 şi 37 de săptămâni, media fiind de 32,65 săptămâni.

Au predominat nou-născuţii de sex masculin (52% versus 48% sex feminin), însă diferenţa nu a fost semnificativă ($p = 0,2444$).

Greutatea la naştere (Gn) a variat între 700 şi 2500 g, media fiind de 1710 g, iar talia la naştere (Tn) a fost cuprinsă între 31 şi 47 cm, cu o medie de 42,64 cm.

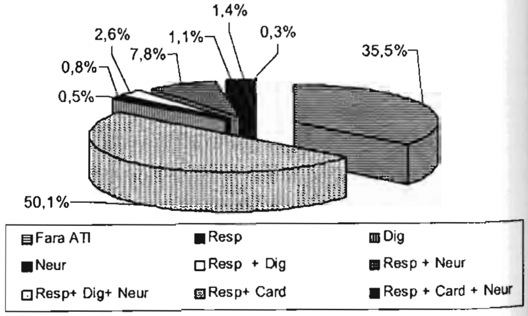


Fig. 1. Cauze ce au impus admiterea în secţia Terapie Intensivă

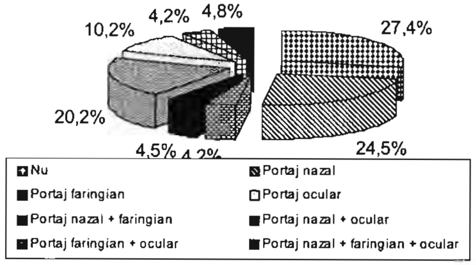


Fig. 2. Rezultatele triajului epidemiologic

Scorul Apgar, apreciat la naştere, a avut o valoare medie de 5,5. Au necesitat manevre de reanimare la naştere mai mult de jumătate dintre copii (411 - 63,2%), iar evoluţia postnatală dificilă a acestora a impus internarea în secţia de Terapie Intensivă (TI) într-un procent similar (64,5%), cea mai frecventă cauză fiind detresa respiratorie (77,6%). Următoarea cauză, ca frecvenţă, a fost asocierea manifestărilor respiratorii cu cele neurologice (12,14 % dintre copiii admişi în secţia de Terapie Intensivă) (fig. 1).

Icterul a apărut la un număr mare de copii (557- 85,6%) şi a impus efectuarea fototerapiei la 92 % dintre aceştia.

Triajul epidemiologic efectuat la internarea în Secţia Recuperare Pediatrică a permis obţinerea de culturi bacteriene la 72,6% dintre copii, cei mai mulţi prezentând colonizare nazală (158 copii - 24,5%) şi asocierea colonizării nazale şi faringiene (130 copii - 20,2 %) (fig. 2).

Au fost alimentaţi iniţial prin gavaj 494 de copii (75,76%), dar ulterior, cu excepţia unuia care a necesitat gavajul pe toată perioada internării în Secţia Recuperare Pediatrică (din cauza unei afecţiuni neurologice), toţi ceilalţi au fost alimentaţi fie la biberon, fie natural (fig. 3).

Rezultatele au evidenţiat o pondere crescută a copiilor alimentaţi artificial (414 – 63,6%), dar indiferent de tipul de alimentaţie (natural, artificial sau mixt) s-a obţinut un spor ponderal corespunzător (aproximativ 28,5 g/zi), valoarea medie fiind de 1143 g într-o perioadă medie de spitalizare de 40 zile.

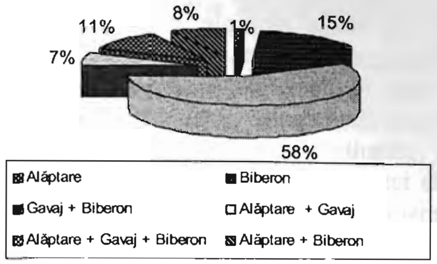


Fig. 3. Tipul de alimentaţie

DISCUŢII

Evaluarea factorilor socio-economici, cunoscuţi a avea un rol important în apariţia naşterii premature, a subliniat implicarea preponderentă a acestora, similar datelor din literatură (1,7,8).

Contrar studiului lui Goldenberg RL et al. care a evidenţiat o incidenţă crescută a naşterilor premature la mamele singure, în lotul nostru nu s-a remarcat apariţia mai frecventă a acestora la mamele necăsătorite comparativ cu cele căsătorite sau cele care trăiau în concubinaj, procentul cel mai mare fiind înregistrat la mamele căsătorite.

Am constatat menţinerea unui număr crescut de întreruperi de sarcină, ceea ce subliniază necesitatea îmbunătăţirii educaţiei sanitare a femeilor în vederea reducerii numărului avorturilor, acesta fiind unul dintre factorii de risc ai naşterii premature care poate fi evitat, după cum evidenţiază şi literatura de specialitate (9).

Rezultatele obţinute au subliniat persistenţa adresabilităţii scăzute la medic, în special în mediul rural, numărul crescut de sarcini nedispensarizate în acest mediu fiind în concordanţă cu numărul mare de naşteri premature.

În lotul studiat, valoarea medie scăzută a scorului Apgar, apreciat la naştere, explică necesitatea instituirii manevrelor de reanimare la mai mult de jumătate dintre copii şi evoluţia postnatală dificilă a acestora, care a impus internarea în secţia de Terapie Intensivă într-un procent similar.

Prematurul este expus unor detrese vitale de cauze multiple, dintre care cea mai frecventă este cea respiratorie (10,11,12). Acest tip de detresă a predominat şi în patologia perinatală a lotului studiat.

Similar datelor din literatură referitoare la icterul mai intens al nou-născutului prematur, cu un risc crescut de evoluţie către icter nuclear (13) şi în studiul efectuat icterul a apărut la un număr mare de copiii şi a impus efectuarea fototerapiei la cei mai mulţi dintre aceştia.

Procentul ridicat de nou - născuţi prematur colonizaţi cu o floră bacteriană diversă, care pe fondul deficitului imun al acestora creşte riscul apariţiei unor infecţii severe (14), subliniază încă o dată importanţa respectării măsurilor adecvate de asepsie în secţiile care au în îngrijire aceşti copii.

Majoritatea nou-născuţilor prematur prezintă dificultăţi de alimentaţie, reflexul de supt nefiind în concordanţă cu deglutiţia (15), de aceea 3/4 dintre copiii luaţi în studiu au necesitat administrarea alimentaţiei prin gavaj pentru perioade variabile de timp. În lotul studiat au predominat copiii alimentaţi artificial, fenomen explicabil prin procentul ridicat al copiilor proveniţi din familii numeroase, din mediul rural, cu un nivel educaţional şi socio - economic scăzut. Utilizarea unor formule de lapte adaptate nevoilor speciale ale acestei categorii de copii a permis obţinerea unui spor ponderal corespunzător.

CONCLUZII

Factorii socio-economici au reprezentat principalul factor de risc al apariţiei naşterii premature, îndeosebi pentru mamele provenite din mediul rural. Cercetarea noastră evidenţiază persistenţa unui număr crescut de sarcini nedispensarizate, predominant în acelaşi mediu.

Îmbunătăţirea îngrijirilor perinatale a permis asigurarea unei evoluţii favorabile a copiilor născuţi prematur deşi un număr crescut dintre aceştia a necesitat iniţial internarea în secţia de Terapie Intensivă,.

Laptele uman rămâne *gold standard*-ul alimentaţiei în primele luni de viaţă, dar utilizarea formulelor de lapte adaptate nevoilor particulare ale acestor copii coroborată cu asigurarea unor condiţii optime de îngrijire a asigurat o dezvoltare corespunzătoare.

BIBLIOGRAFIE

1. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD et al. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet* 2008; 371: 75-84.
2. Martin JA, Kung HC, Mathews TJ et al. Annual summary of vital statistics. *Pediatrics* 2008; 121 (4): 788-801.
3. Simhan HN, Caritis SN. Prevention of preterm delivery. *N Engl J Med* 2007; 357: 477-487.
4. FG Krupa, D Faltin, JG Cecatti et al. Predictors of preterm birth. *Int J Gynaecol Obstet* 2006; 94: 5-11.
5. Parazzini F, Chatenoud L, Surace M et al. Moderate alcohol drinking and risk of preterm birth. *Eur J Clin Nutr* 2003; 57: 1345.
6. Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med* 2000; 342: 1500-1507.
7. Martius JA, Steck T, Oehler Mk et al. Risk factors associated with preterm (<37+0 weeks) and early preterm birth (<32+0 weeks): univariate and multivariate analysis of 106 345 singleton births from the 1994 statewide perinatal survey of Bavaria. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998; 80 (2): 183-189.

8. Virk J, Zhang J, Olsen J. Medical abortion and the risk of subsequent adverse pregnancy outcomes. *N Engl J Med* 2007; 357: 648-653.
9. Ancel PY, Lelong N, Papiernik E et al. History of induced abortion as a risk factor for preterm birth in European countries: results of the EUROPOP survey. *Hum Reprod* 2004; 19: 734-740.
10. Banks-Randall B, Ballard RA. Bronchopulmonary dysplasia. In: Taeusch HW, Ballard RA, Geason ChA editors. *Avery's Diseases of the Newborn.* 8th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2005, 723-736.
11. Welty S, Hansen T, Corbet A. Respiratory distress in the preterm infant. In: Taeusch HW, Ballard RA, Geason ChA editors. *Avery's Diseases of the Newborn.* 8th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2005, 687-703.
12. Geary C, Caskey M, Fonseca R et al. Decreased incidence of bronchopulmonary dysplasia after early management changes, including surfactant and nasal continuous positive airway pressure treatment at delivery, lowered oxygen saturation goals, and early amino acid administration: a historical cohort study. *Pediatrics* 2008; 121 (1): 89-96.
13. Atkinson LR, Escobar GJ, Takyama JI et al. Phototherapy use in jaundiced newborns in a large managed care organization: do clinicians adhere to the guideline? *Pediatrics* 2003; 2: 111-112.
14. Polin R, Parravicini E, Regan J. Bacterial sepsis and meningitis. In: Taeusch HW, Ballard RA, Geason ChA editors. *Avery's Diseases of the Newborn.* 8th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2005, 551-577.
15. Lau C, Smith EO, Schanler RJ. Coordination of suck-swallow and swallow respiration in preterm infants. *Acta Paediatr* 2003; 92: 721-727.

NOUTĂŢI

ANALIZA EFECTULUI INHIBITOR AL RESTAURĂRILOR COMPOZITE CE CONŢIN MDPB ASUPRA EVOLUŢIEI CARIILOR SECUNDARE RADICULARE

Autorii studiului şi-au propus să evalueze in vitro efectul inhibitor al unui material de restaurare care conţine MDPB (un monomer acrilic cu efect antibacterian) asupra formării cariilor secundare radiculare artificiale. Studiul a cuprins 75 de restaurări de clasa a V-a efectuate pe fragmente radiculare de dinţi umani extraşi. Cele cinci loturi au cuprins restaurări realizate cu o răşină compozită şi sistem adeziv; ciment ionomer de sticlă modificat cu răşină; compozit cu MDPB asociat cu sistem adeziv obişnuit; compozit cu MDPB şi sistem adeziv cu conţinut de MDPB. In vitro, au fost create carii radiculare artificiale prin stocarea eşantioanelor într-un mediu de cultură ce conţinea Streptococcus mutans şi zaharoză timp de 15 zile. Profunzimea leziunilor induse la marginile cavităţilor a fost măsurată prin examinarea secţiunilor la microscopul cu lumină polarizată. Profunzimea cavităţilor adiacente restaurărilor cu ciment ionomer a fost semnificativ mai redusă decât a celor situate la marginile obturaţiilor cu răşină compozită chiar şi în cazurl utilizării sistemului adeziv cu MDPB. În schimb, profunzimea cavităţilor adiacente restaurărilor cu compozit ce conţine MDPB, a fost similară celor adiacente cimentului ionomer de sticlă, indiferent de sistemul adeziv utilizat. Rezultatele demonstrează că răşinile compozite cu conţinut de MDPB inhibă evoluţia cariilor radiculare secundare indiferent de sistemul adeziv utilizat. Utilizarea MDPB-ului ar putea compensa o parte din defectele răşinilor compozite legate de contracţia de priză. Astfel de materiale ar putea constitui alternative superioare cimenturilor ionomere de sticlă modificate curăşină (Thomé T, Mayer MPA, Imazato S, Geraldo-Martins VR, Marques M: In vitro analysis of inhibitory effects of the antibacterial monomer MDPB-containing restorations on the progression of secondary root caries. *J Dentistry* 2009; 37(9): 705-711).

Gianina Iovan

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

PARTICULARITĂŢI PRIVIND RISCURILE INDIVIDUALE LA UN LOT DE FEMEI CU NEOPLAZII GENITALE

Mioara Matei[1,2], **L. Negură**[3], **E. Carasevici**[3], **Doina Azoicăi**[1,2]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Disciplina de Asistenţa Primară a Stării de Sănătate şi Epidemiologie
2. Unitatea de Epidemiologie Clinică Iaşi
3. Disciplina de Imunologie

PARTICULARITIES OF THE INDIVIDUAL RISKS IN A GROUP OF WOMEN WITH GENITAL CANCERS (Abstract): Genital cancers represent an important issue regarding women health, as they produce a large number of cases, invalidities and deaths. **Aim**: The evaluation of individual risks for a group of women with genital neoplasia. **Material and methods**: We have realized a pilot case-control study in order to validate the questionnaire for the evaluation of risk factors in genital cancers, in a number of 40 female subjects (20 cases and 20 controls). We have realized the data processing using the *SPSS 16* and *EpiInfo 3.5.1.* soft wares. **Results**: For questionnaire validation we have evaluated the reproducibility, the validity, the acceptability and the practicability of the questionnaire. In order to establish the test reproducibility, we have calculated k factors for inter-investigator (k = 0.34) and intra-investigator (k = 0.72) variation. To evaluate the questionnaire validity we calculated the sensitivity (cases = 94% ; controls = 97%), specificity (cases = 67% ; controls = 75%), positive predictive value (cases = 94% ; controls = 94 %), negative predictive value (cases = 67% ; controls = 86%). The risk factors most frequently identified were genital infectious in clinical records (75% comparing to 52,5% - p = 0.036), and also the presence of other pathological records in genital area (65% comparing to 22,5% - p = 0.0001). **Conclusions**: For an accurate identification of individual risk at women with genital cancers subsequently studies on greater number of subjects is necessary. **Key words**: CERVICAL CANCER, OVARIAN CANCER, ENDOMETRIAL CANCER, RISK ASSESSMENT

În 2008, la nivel mondial, au fost înregistrate 12,4 milioane noi cazuri de cancer, 28 milioane cazuri prevalente şi 7,6 milioane decese datorate acestor maladii (1).

Cancerele genitale la femei reprezintă 19% din cele 5,1 milioane de cazuri noi de cancer estimate la nivel mondial în 2002 (2) şi se numără printre principalele cauze de deces (cu 2,9 milioane decese) (1).

Cancerul de col uterin ocupă primul loc ca incidenţă între neoplaziile genitale (cu 493.000 de cazuri noi), constituie al doilea cel mai frecvent tip de cancer la femeile din întreaga lume, iar peste 80% din cazuri apar în ţările aflate în curs de dezvoltare. Prevalenţa acestor malignităţi este de 1,4 milioane cazuri, iar mortalitatea de 273.000 decese la nivel mondial (1,2,3). Printre cei mai importanţi factori de risc se situează infecţia persistentă cu *Human Papillomavirus* (HPV), numărul mare de naşteri şi avorturi, debutul precoce al vieţii sexuale şi infecţiile genitale repetate cu alţi agenţi patogeni (1,4,5).

În anul 2002, cancerul ovarian a produs un număr de 204.000 cazuri noi şi 125.000 decese, plasând acest tip de neoplazie pe locul al 6-lea ca frecvenţă între tumorile maligne ale femeii şi pe locul al 7-lea între cauzele de deces prin cancer (1,2,3). Paritatea şi utilizarea contraceptivelor orale (CO) scad riscul pentru cancer ovarian, în timp ce menopauza tardivă şi utilizarea terapiei hormonale de substituţie (THS) sunt asociate cu o creştere moderată a riscului (1,5,6,7,8).

Cancerul endometrial reprezintă a 7-a cea mai frecventă neoplazie la femei (199.000 de cazuri noi = 3,9% şi 50.000 de decese = 1,7%) şi al 4-lea tip de cancer ca frecvenţă în ţările dezvoltate (1,2). Ipoteza estrogenilor nebalansaţi este cea mai acceptată în etiologia cancerului endometrial, iar obezitatea este unul dintre cei mai importanţi factori de risc ai cancerului endometrial la nivel mondial şi este responsabilă pentru mai mult de 40% dintre cazurile de neoplazii endometriale. Utilizarea CO este asociată cu o descreştere a riscului pentru cancer endometrial (1,5,9).

Ca urmare, evaluarea riscurilor pentru neoplaziile genitale este un element important în stabilirea priorităţilor pentru controlul acestor afecţiuni.

Scopul studiului a fost evaluarea riscurilor individuale la un lot de femei cu neoplazii genitale (cancer ovarian, de col uterin şi endometrial).

Obiectivele studiului au fost: elaborarea unui chestionar pentru evaluarea factorilor de risc implicaţi în apariţia cancerelor genitale; validarea chestionarului pe populaţia studiată; evaluarea prevalenţei unor factori de risc pentru aceste tipuri de tumori maligne la populaţia inclusă în cercetare.

MATERIAL ŞI METODĂ

Am efectuat un studiu caz-martor pilot pentru validarea chestionarului de evaluare a factorilor de risc pentru neoplazii genitale la femei.

Cele 20 de cazuri au fost recrutate dintre persoanele care s-au prezentat în Ambulatoriul de Oncologie (Cabinetul Judeţean de Oncologie) şi Clinica de Oncologie a Spitalului Universitar Sfântul Spiridon Iaşi în perioada iunie – august 2009 pentru recoltare de probe pentru analize şi care după 3-5 zile s-au prezentat din nou pentru evaluarea rezultatelor analizelor şi aplicarea terapiei sau repetarea analizelor şi au îndeplinit criteriile de includere în studiu: diagnostic de neoplazie genitală (ovar, col uterin sau endometru); vârstă între 20 şi 65 ani; domiciliul în judeţele regiunii de Nord-est a României.

Martorii au fost selectaţi dintre persoanele care s-au prezentat în Clinicile de Boli Infecţioase pentru diferite afecţiuni acute sau însoţitori ai unor copii cu afecţiuni acute, conform următoarelor criterii de includere şi excludere: femei; vârstă între 20 şi 65 ani; domiciliul în unul dintre judeţele regiunii de Nord-est a României; fără evidenţe de cancer în prezent şi fără afecţiuni cronice respiratorii, cardiovasculare, hepatice sau renale.

A fost realizată o bază de date în Excel care a fost prelucrată ulterior cu ajutorul programelor *SPSS* 16 şi *EpiInfo* 3.5.1. Un total de 40 de cazuri şi 40 de martori au fost recrutaţi până în acest moment. Variabilele studiate au fost analizate descriptiv şi s-au considerat semnificative statistic valorile p< 0,05.

REZULTATE

Reproductibilitatea (repetabilitatea/fiabilitatea) unui instrument constă în capacitatea acestuia de a furniza o măsurătoare identică în mod repetat (la aplicarea instrumentului în condiţii similare). Pentru evidenţierea acestei calităţi a chestionarului am analizat concordanţa inter- şi intra-investigator. Pentru evaluarea variaţiei inter-investigator chestionarele au fost aplicate la acelaşi subiect (caz/martor) de către 2 persoane diferite la un interval de o zi (24 ore) şi s-a calculat coeficientul de concordanţă kappa (tab. I). Pentru aprecierea variaţiei intra-investigator chestionarul a fost aplicat de către acelaşi investigator, la acelaşi subiect, la un interval de 3-5 zile, calculându-se în final coeficientul de concordanţă kappa (tab. II).

$$k = \frac{O - E}{1 - E}$$

unde O = acordul observat; E = acordul aşteptat pe baza şansei; O – E = acordul actual exceptând şansa; 1 – E = acordul potenţial exceptând şansa.

Am considerat ca fiind pozitiv chestionarul care conţine peste 95% din itemi echivalenţi inter-investigator / intra-investigator.

k = 0,34 < 0,4 - valoare care relevă un acord redus inter-investigatori.

k = 0,72 aparţine intervalului (0,61 – 0,80) – date care sugerează un acord substanţial intra-investigator.

Validitatea este capacitatea instrumentului de a furniza o măsurătoare exactă a ceea ce trebuie măsurat. Ea poate fi determinată faţă de un „Gold standard" (GS) sau, atunci când acesta nu există, faţă de cea mai bună metodă disponibilă - în cazul nostru, înregistrările medicale (foaie de observaţie, buletin anatomo-patologic, buletine de analize).

Pentru aprecierea sa s-au evaluat sensibilitatea (Se), specificitatea (Sp), valoarea predictivă pozitivă (VPP) şi valoarea predictivă negativă (VPN).

Pentru cazuri, am obţinut următoarele valori: Se = 16/17 = 94%; Sp = 2/3 = 67%; VPP = 16/17 = 94%; VPN = 2/3 = 67% (tab. III).

Pentru martori, am obţinut următoarele valori: Se = 31/32 = 97%; Sp = 6/8 = 75%; VPP = 31/33 = 94%; VPN = 6/7 = 86% (tab. IV).

Acceptabilitatea. Peste 90% din cei invitaţi să participe la studiu au acceptat să completeze chestionarele. 60 (93,75%) subiecţi au acceptat, 3(6,25%) au refuzat din diferite motive.

Practicabilitatea chestionarului. Timpul mediu de aplicare a chestionarului a fost de 14 minute, cu un minim de 8 şi un maxim de 20 de minute.

Caracteristicile subiecţilor incluşi în baza de date au fost următoarele: pentru cazuri, vârsta medie a fost de 48,55 ani ± 10,62 ani (min. = 23 ani, max. = 69 ani); 23 (57,7%) au fost persoane din mediul urban şi 17 (42,5%) din rural. Majoritatea au fost diagnosticate cu cancer de col uterin - 18 (45%), urmat de cancer ovarian – 14 (35%) şi cancer de endometru – 8 (20%) (cu un p = 0,002). Numărul mediu de naşteri a fost de 2,12 iar numărul mediu de avorturi de 3,38. În figura 1 este prezentată distribuţia cazurilor în ceea ce priveşte tipul histologic. În figura 2 este redată distribuţia pe stadii în lotul studiat.

TABELUL I

Variaţia inter-investigator

	Investigatorul B			
Investigatorul A		+	-	TOTAL
	+	33	17	50
	-	1	9	10
	TOTAL	34	26	60

TABELUL II

Variaţia intra-investigator

	Investigatorul A_2			
Investigatorul A_1		+	-	TOTAL
	+	47	3	50
	-	2	8	10
	TOTAL	49	11	60

TABELUL III

Sensibilitatea, specificitatea, valoarea predictivă pozitivă şi negativă pentru cazuri

	Înregistrări medicale			
Chestionar		+	-	TOTAL
	+	16	1	17
	-	1	2	3
	TOTAL	17	3	20

TABELUL IV

Sensibilitatea, specificitatea, valoarea predictivă pozitivă şi negativă pentru martori

	Înregistrări medicale			
Chestionar		+	-	TOTAL
	+	31	2	33
	-	1	6	7
	TOTAL	32	8	40

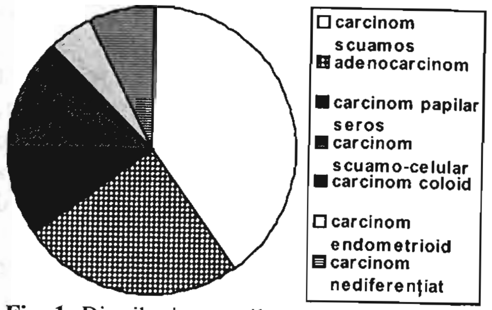


Fig. 1. Distribuţia cazurilor după tipul histologic

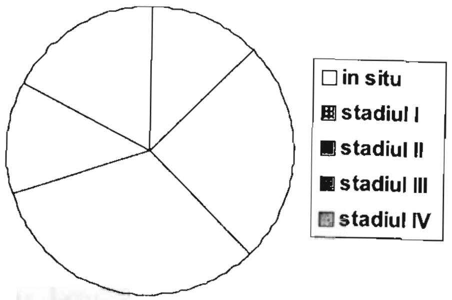


Fig. 2. Distribuţia cazurilor pe stadii de boală

TABELUL V

Prevalenţa unor factori de risc pentru neoplaziile genitale la populaţia studiată

Factorii de risc	Nr. subiecţi		Prevalenţă (%)		p
	Cazuri	Martori	Cazuri	Martori	
Prima menstruaţie sub 12 ani	6	9	15	22,5	0,390 (NS)
Nuliparitatea	4	9	10	22,5	0,129 (NS)
Debutul vieţii sexuale sub 20 ani	17	19	42,5	72,5	**0,006 (S)**
Vârsta la prima naştere peste 30 ani	1	1	2,5	2,5	0,753 (NS)
Infecţii genitale în antecedente	30	21	75	52,5	**0,036 (S)**
IMC peste 25	17	15	42,5	37,5	0,648 (NS)
Consum de C. O.	12	16	30	40	0,348 (NS)
Antecedente patologice	26	9	65	22,5	**0,0001 (S)**
Tratament fertilizant	3	1	7,5	2,5	0,307 (NS)
Terapie hormonală de substituţie	2	2	5	5	0,692 (NS)

Pentru lotul martor, vârsta medie a fost de 32,27 ani ± 11,86 ani (min. = 20 ani, max. = 65 ani), 14 (35%) au provenit din urban şi 26 (65%) din rural; numărul mediu de naşteri a fost de 1,87, iar cel de avorturi – 1,52.

În tabelul V este prezentată prevalenţa unor factori de risc pentru neoplaziile genitale în populaţia studiată.

DISCUŢII

Validitatea unui chestionar ca un instrument de măsură a unor variabile de interes a fost determinată într-un studiu pilot înainte de începerea derulării cercetării propriu-zise. Aceasta implică evaluarea reproductibilităţii, validităţii (exactităţii), acceptabilităţii şi practicabilităţii chestionarului respectiv în populaţia studiată.

Pentru aprecierea validităţii chestionarului s-au evaluat sensibilitatea (Se), specificitatea (Sp), valoarea predictivă pozitivă (VPP) şi valoarea predictivă negativă (VPN).

Se = proporţia subiecţilor clasificaţi ca pozitivi (cu factori de risc) după „Gold Standard" care sunt corect identificaţi prin chestionar.

Se = a / (a + c)

Sp = proporţia indivizilor clasificaţi ca negativi (fără factori de risc) după „Gold Standard" care sunt corect identificaţi prin chestionar.

Sp = d / (b + d)

VPP = probabilitatea ca cineva identificat pozitiv prin chestionar să fie în mod real determinat ca pozitiv de către „Gold Standard".

VPP = a / (a + b)

VPN = probabilitatea ca cineva identificat negativ prin chestionar să fie în mod real determinat ca negativ de către „Gold Standard".

VPN = d / (c + d)

Unde: a = adevărat pozitivi; b = fals pozitivi; c = fals negativi; d = adevărat negativi (10,11,12).

Un test ideal are o mare sensibilitate (identifică corect o mare parte din pozitivi) şi o mare specificitate (furnizează doar puţine rezultate pozitive la persoanele identificate ca negative prin Gold Standard) (12).

În situaţia noastră, chestionarul are o sensibilitate ridicată (atât pentru cazuri, cât şi pentru martori), dar o specificitate redusă comparativ cu înregistrările medicale, adică procentul de fals pozitivi este mai mare (mai ales printre cazuri). VPP este identică în cele două grupuri (cazuri / martori) şi este ridicată, ceea ce arată că probabilitatea celor identificaţi cu factori de risc prin chestionar de a fi într-adevăr pozitivi este mare. VPN este scăzută (mai ales printre cazuri - 67%), adică avem un procent mare de fals negativi. Debutul precoce al vieţii sexuale, prezenţa infecţiilor genitale în antecedente, precum şi existenţa altor afecţiuni genitale în antecedentele subiecţilor (ovar polichistic, fibrom uterin, endometrioză) au fost asociate pozitiv cu neoplaziile genitale în studiul nostru.

CONCLUZII

Pentru a corecta posibilele erori introduse în culegerea informaţiilor cu ajutorul chestionarului, prin variaţiile inter-investigatori şi prin specificitatea scăzută, în cercetarea noastră vom lucra cu un număr cât mai redus de investigatori bine instruiţi, care vor utiliza un protocol bine stabilit de aplicare a chestionarului (protocol ce va include şi validarea răspunsurilor în acord cu înregistrările medicale).

Deoarece în baza de date folosită în această etapă, exclusiv pentru validarea chestionarului, există diferenţe între grupurile de cazuri şi martori în ceea ce priveşte structura pe grupe de vârstă, cât şi unele asocieri nesemnificative între anumiţi factori recunoscuţi în literatură ca fiind de risc pentru aceste tipuri de neoplazii, vom urmări, în eşantioanele selectate în studiul propriu-zis, să corectăm erorile sistematice pe care le-am identificat (mărimea mai mare a eşantioanelor, comparabilitatea structurii pe grupe de vârstă în cele 2 eşantioane etc.).

MULŢUMIRI

Acest studiu s-a realizat în cadrul Grantului CNCSIS cod ID_2500/2008, nr. contract 1129/2009 - finanţat de Unitatea Executivă pentru Finanţarea Învăţământului Superior şi a Cercetării Ştiinţifice Universitare (UEFISCSU) în cadrul Proiectelor de Cercetare Exploratorie, Programul „IDEI" ale Consiliului Naţional al Cercetării Ştiinţifice din Învăţământul Superior (CNCSIS).

BIBLIOGRAFIE

1. Boyle P, Levin B. *World Cancer Report 2008*. Lyon: IARC Press, 2009.
2. Sankaranarayanan R., Ferlay J. Worldwide burden of gynaecological cancer: the size of the problem. *Best Practice & Res Clin Obstet Gynecol* 2006; 20 (2): 2007-225.
3. Arbyn M, Raifu AO, Autier P, Ferlay J. Burden of cervical cancer in Europe: estimtes for 2004. *Ann Oncol* 2007; 18 (10): 1708-1715.
4. Munoz N, Castellsague X, deGonzalez AB, Gissman L. HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine* 2006; 24: S1-S10.
5. Parazzini F, Franceschi S, LaVecchia C, Chatenoud L, DiCintio E. The epidemiology of female genital tract cancers. *Int J Gynecol Cancer* 1997; 7: 169-181.
6. Edmondson RJ, Monaghan JM. The epidemiology of ovarian cancer. *Int. J Gynecol Cancer* 2001; 11: 423-429.

7. Riman T, Nilsson S, Persson R. Review of epidemiological evidence for reproductive and hormonal factors in relation to the risk of epithelial ovarian malignancies. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004; 83: 783-795.
8. Chiaffarino F, Parazzini F, Bosetti C et al. Risk factors for ovarian cancer histotypes. *Eur J Cancer* 2007; 43: 1208-1213.
9. Reed SD, Voigt LF, Beresford SAA, Hill DA, Doherty JA, Weiss NS. Dose of progestin in postmenopausal-combined hormone therapy and risk of endometrial cancer. *Am J Epidemiol* 2004; 191: 1146-1151.
10. Sobngwi E, Mbanya JCN, Unwin NC, Aspray TJ, Alberti K. Development and validation of a questionnaire for the assessment of phisical activity in epidemiological studies in Sub-Saharan Africa. *Int J Epidemiol* 2001; 30: 1361-1368.
11. Ashton-Prolla P, Giacomazzi J, Schmidt V et al. Development and validation of a questionnaire for the identification of hereditary breast cancer in Primary Care. *J Clin Oncol* 2008; 26 (suppl. 20): abstr. 22094.
12. Dos Santos Silva I. *Cancer Epidemiology: Principles and Methods*. Lyon: International Agency for Research on Cancer Press, 1999, 11-44.

NOUTĂŢI

PROANTOCIANIDOLI ŞI UN DERIVAT DE FLOROGLUCINOL DIN *RUMEX ACETOSA* L.

Proantocianidolii, polifenoli proveniţi prin condensarea structurilor de tip flavan-diol, sunt foarte răspândiţi în natură. Numeroase studii care au evaluat efectele biologice ale proantocianidolilor au evidenţiat faptul că ingestia de proantocianidoli poate preveni declanşarea multor boli cronice (boli cardiovasculare, diabet zaharat, boli reumatice, afecţiuni maligne). Proantocianidolii îşi exercită efectele biologice fie ca structuri complexe, neabsorbabile, care produc efecte locale la nivelul tractului gastrointestinal, fie ca structuri absorbabile şi ca metaboliţi absorbabili (proveniţi în urma unor procese fermentative pe care le suferă la nivelul colonului) care au capacitatea de a acţiona sistemic. Rolul important pe care îl au proantocianidolii pentru sănătatea umană justifică şi numeroasele încercări pentru identificarea unor noi surse vegetale bogate în aceşti compuşi. Din părţile aeriene de *Rumex acetosa* L. (*Polygonaceae*, măcriş), Bicker et al. au izolat: monomeri cu structură de tip flavan-3-ol (catehina, epicatehina şi galatul acesteia), dimeri procianidolici (procianidolii B1, B2, B3, B4, B7, A2, esteri ai acestora cu acidul galic, dimeri ai apiafzelehinei cu epicatehina), trimeri procianidolici (procianidolul C1, trimeri ai epicatehinei cu epiafzelehina şi respectiv, catehina), tetrameri procianidolici (procianidolul D1, parameritaninul A1), un polimer proantocianidolic şi un derivat glucozidat cu structură de tip floroglucinol. Doi dimeri şi doi trimeri constituiţi din epiafzelehină şi catehină, precum şi derivatul de floroglucinol au fost izolaţi prentru prima oară din regnul vegetal. Pentru elucidarea structurii compuşilor izolaţi au fost utilizate spectroscopia de masă şi spectroscopia de rezonanţă magnetică nucleară atât uni- cât şi bidimensională (Bicker J, Petereit F, Hensel A. Proanthocyanidins and a phloroglucinol derivative from *Rumex acetosa* L. *Fitoterapia* 2009; 80 (8): 483-495).

Anca Miron

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

MEDICINĂ PREVENTIVĂ - LABORATOR **ARTICOLE ORIGINALE**

CERCETĂRI CLINICO-EPIDEMIOLOGICE, RETROPROSPECTIVE, PE UN LOT DE 277 BOLNAVI CU HEPATITĂ VIRALĂ A, ÎN VÂRSTĂ DE 20-70 ANI, DIN JUDEŢUL SUCEAVA, ÎN PERIOADA 2001-2008

Antoneta-Maria Ilie[1,2], Alina Manole[2], Corina Stănescu[3],
Liliana Cojocaru[4], A. Lăzăreanu[5], Cătălina Pascal[5]
Direcţia de Sănătate Publică Suceava
1. Cabinet Individual de Medicină de Familie Preuteşti
5. Laboratorul de Epidemiologie
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
2. Disciplina de Asistenţa Primară a Stării de Sănătate şi Epidemiologie
3. Spitalul de Boli Infecţioase Suceava
4. Spitalul de Boli Infecţioase Fălticeni

CLINICAL EPIDEMIOLOGICAL RETROPROSPECTIVE RESEARCH ON A SAMPLE OF 277 PATIENTS WITH VIRAL HEPATITIS A, 20-70 AGED, FROM THE SUCEAVA COUNTY, BETWEEN 2001-2008 (Abstract): Authors present some results of clinical epidemiological research carried out on a sample of 277 patients with viral hepatitis A (VHA), hospitalized in Suceava County, during 8 years. **Material and method**: An annual evolution of VHA incidence correlated with the epidemiological territorial situation was highlighted. **Results**: Incidence of VHA in 20-40 age group represented 70.8%, and 33.5% in 20-25 age group. Diagnosis index was unfavourable with influence for interval of hospitalization over 21 days in 9.7% of cases. The VHA characteristic medium clinical form was kept in 80.1% of total patients. ASAT and ALAT levels were correlated with the clinical forms, age structure and early diagnosis difficulties. **Key words**: VIRAL HEPATITIS A, EPIDEMIOLOGY, INCIDENCE, CLINICAL FORM, RISK FACTORS

În multitudinea hepatitelor virale, se situează şi hepatita virală A (HVA), boală specifică omului, semnalată de Hipocrat şi descrisă spre finele secolului al XVIII-lea, sub denumirea de "icter epidemic" (1,2). Observaţiile clinico-epidemiologice şi, mai târziu, cele virusologice, au evidenţiat că HVA este cauzată de un virus din familia *Picornaviridae*, genul *Hepatovirus*, care determină o boală generală a organismului, interesând îndeosebi ficatul.

HVA are tendinţă la o evoluţie epidemică şi manifestări clinice predominant benigne, fără să cronicizeze, dar cu risc de evoluţie prelungită sau chiar fulminantă, în cazul asocierii cu prezenţa altor virusuri cu tropism hepatic (virusul hepatitei B, C ş.a.) sau când gazda umană este imunodepresată.

Diagnosticul de HVA se poate stabili coroborând informaţiile epidemiologice, clinice şi cele de certitudine, prezenţa anticorpilor anti-VHA de tip IgM şi IgG şi, eventual, evidenţierea ARN-VHA (3,4,5).

MATERIAL ŞI METODE

În studiu a fost inclus un lot de 277 bolnavi cu HVA, confirmaţi prin spitalizare, în Judeţul Suceava, în perioada 2001-2008. Culegerea informaţiilor epidemiologice, clinice şi de laborator s-a realizat prin anchete epidemiologice, foile de observaţie şi rapoartele spitalului şi DSP judeţeană. Prelucrarea datelor şi interpretarea rezultatelor s-au efectuat prin metode epidemiologice şi statistico-matematice.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

1. Caracteristicile lotului de bolnavi. În cei 8 ani luaţi în studiu, în Secţia de Boli Infecţioase a spitalului judeţean, au fost confirmaţi cu HVA 277 bolnavi, cu valori ale incidenţei diferite de la un an la altul (68 în 2003 şi 14%ooo în 2007) (fig. 1).

1. 1. Repartiţia pe sex, atât cumulativ pentru întreaga perioadă, cât şi anual, a evidenţiat o diferenţă nesemnificativă ($p \geq 0,05$) (50,1% masculin şi 49,9% feminin), de unde rezultă că virusul hepatitei A (VHA) nu prezintă o agresivitate diferită în raport cu sexul.

1. 2. Repartiţia pe medii a arătat că 59,6% din cazuri au provenit din rural şi 40,4% din urban ($p < 0,05$), reprezentând o diferenţă moderată în favoarea mediului rural. Pentru HVA, infecţie virală cu transmitere predominant enterală, condiţiile de igienizare din rural, adesea precare, pot explica o incidenţă mai crescută a cazurilor confirmate şi provenite din aceste zone (6) (tab. I).

2. Analiza repartiţiei pe grupuri de vârstă, pentru cei 277 bolnavi, în vârstă de 20 la ≥70 ani a indicat o dispersie cu predominanţă pentru intervalul 20-40 ani totalizând 70,8%, pentru ca numai grupul 20-25 ani să reprezinte 33,5% din total morbiditate înregistrată în perioada 2001-2008.

HVA, cunoscută, în trecut, ca boală cu afectare predominantă a vârstei copilăriei, a înregistrat treptat, de-a lungul ultimelor decenii, un proces de "adultizare". O igienizare de nivel tot mai ridicat la vârsta copilăriei a determinat acumularea unor procente ridicate de tineri adulţi neimunizaţi natural, ca urmare a trecerii prin boală şi, ca atare, receptivi pentru infecţia cu VHA. La această situaţie se adaugă şi intervenţia migraţiei, cu variate motive, şomajul, aglomeraţiile ocazionate de cataclismele naturale şi sociale ş.a., toate acestea creând condiţii favorabile diseminării VHA printre structurile demografice cu niveluri scăzute ale imunităţii şi rezistenţei generale nespecifice (7). Aşa se explică, în cazul nostru, faptul că grupurile de vârstă de la 41 la ≥70 ani au înregistrat valori de incidenţă a HVA spitalizată, cu variaţii anuale şi cumulativ pentru cei 8 ani luaţi în studiu, de 7,2 şi 2,5%, reprezentând 25,9% din totalul cazurilor studiate (fig. 2).

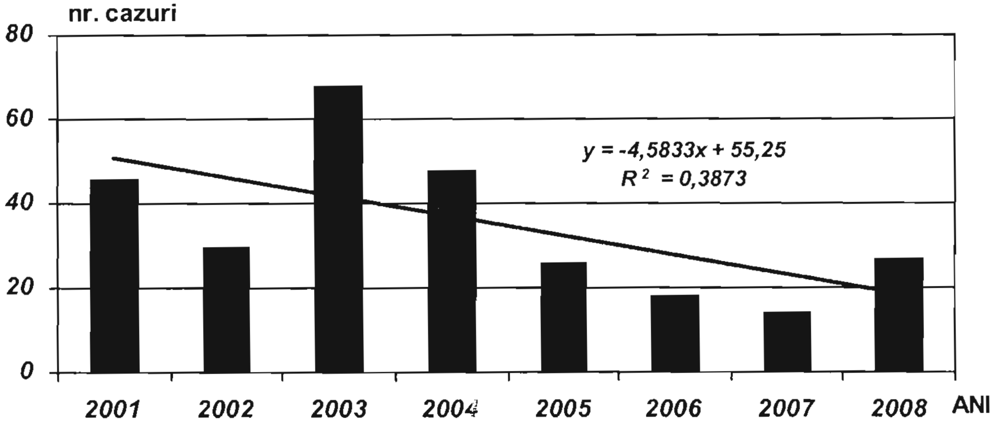


Fig. 1. Distribuţia anuală a cazurilor de hepatită virală A, confirmate prin spitalizare, în Judeţul Suceava, în perioada 2001-2008

TABELUL I

Repartiţia pe sex şi mediu a 277 bolnavi cu hepatită virală A, confirmaţi prin spitalizare, în judeţul Suceava, în perioada 2001-2008

Anul	Nr. cazuri	Sex				Mediu			
		Masculin		Feminin		Urban		Rural	
		Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
2001	46	22	47,8	24	52,2	17	36,9	29	63,1
2002	30	17	56,6	13	43,3	16	53,3	14	46,6
2003	68	32	47,0	36	47,0	37	54,4	31	45,6
2004	48	23	47,9	25	52,1	16	33,3	32	66,6
2005	26	17	65,4	9	34,6	5	19,2	21	80,7
2006	18	8	44,4	10	55,5	8	44,4	10	55,5
2007	14	9	64,3	5	35,7	4	28,5	10	71,4
2008	27	11	40,7	16	59,2	9	33,3	18	66,6
Total	**277**	**139**	**50,1**	**138**	**49,9**	**112**	**40,4**	**165**	**59,6**

3. Condiţiile de viaţă şi ocupaţionale. Cu unele diferenţe anuale, din cei 277 bolnavi, 66,1% au declarat condiţii de viaţă optime, iar 33,9%, modeste. Rezultă că în peste 1/3 din cazurile studiate, VHA a avut condiţii favorabile diseminării similar cu condiţiile ocupaţionale reprezentate de grupurile ocupaţionale reprezentate de şomeri (28,5%), pensionari (10,8%) şi alte categorii cu risc pentru a contracta HVA.

4. Evaluarea indicelui de depistare a permis evidenţierea unor deficienţe importante în ceea ce priveşte numărul de zile care au trecut de la îmbolnăvire la descoperirea şi izolarea, inclusiv prin spitalizare, a cazurilor de HVA. În numai 13% din cazuri, depistarea a avut loc în mai puţin de 3 zile, pentru ca aceasta să se realizeze la 4-6 zile (39,7%), 7-10 (35,7%) şi chiar 11 zile şi mai mult (11,5%).

Debutul atipic, predominanţa formelor clinice uşoare şi medii, la care s-au asociat deficienţe socio-economice şi educaţionale, explică înregistrarea unui indice de depistare total nefavorabil în 87% din lotul de bolnavi luat în studiu (fig. 3).

5. Durata spitalizării, cu excepţia a 9,7% din cazuri care au depăşit 21 de zile, în celelalte, aceasta a fost sub 10 zile (33,9%), 11-15 (36,8%) şi 16-20 (19,5%). Se poate aprecia calitatea bună a activităţii medicale în serviciile de specialitate, care au manifestat operativitate în stabilirea diagnosticului de certitudine, reducând costurile şi asigurând reinserţia socială, pe termen scurt, a bolnavilor spitalizaţi.

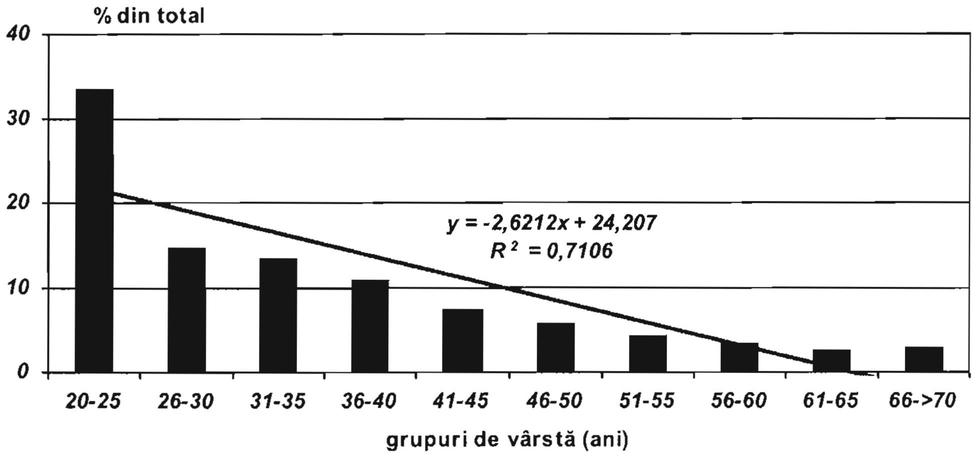


Fig. 2. Incidenţa pe grupuri de vârstă a cazurilor de hepatită virală A, confirmate prin spitalizare, în Judeţul Suceava, cumulativ pentru perioada 2001-2008

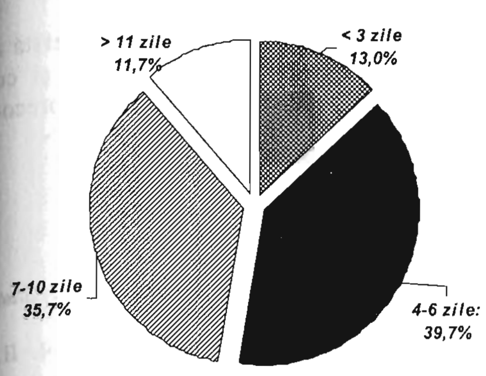


Fig. 3. Valorile indicelui de depistare a hepatitei virale A, pe un lot de 277 bolnavi confirmaţi în serviciile de specialitate din Judeţul Suceava, cumulativ pentru perioada 2001-2008

6. Analiza perioadei de spitalizare, raportată la cele patru trimestre, a arătat că HVA a devenit o maladie infecţioasă care nu mai este dependentă, în mod deosebit, de condiţiile naturale, ale căror caracteristici, pe anotimpuri, s-au modificat. În schimb, procesul epidemiologic al HVA este influenţat de condiţiile sociale, îndeosebi de cele legate de activităţile din trimestrul IV, cu reînceperea activităţilor în colectivităţile de preşcolari, şcolari şi tineri adulţi.

În lotul nostru, 40,1% din cazurile de HVA, confirmate prin spitalizare, s-au înregistrat în trimestrul IV, pentru ca în celelalte trei trimestre, incidenţa să înregistreze valori apropiate, cu diferenţe nesemnificative: trimestrul I - 20,9%; II - 19,8%; III - 18,0% ($p \geq 0,05$).

7. Unele date clinice. Cumulativ pentru cei opt ani luaţi în studiu, HVA a înregistrat forme cu manifestări clinice uşoare în numai 5% din cazuri, fapt explicat prin structura lotului studiat, alcătuit din bolnavi în vârstă de la 20 la peste 70 ani. S-a păstrat caracteristica dominantă a HVA de a se manifesta cu intensitate clinică medie (80,1%), asociată şi cu 14,8% forme severe. Prezenţa icterului în perioada de stare a bolii nu a fost semnalată în 6,1%, în 79% din cazuri acesta a avut o intensitate medie şi în 14,8%, ridicată.

8. Nivelurile transaminazelor (UI) au fost evaluate orientativ, atât pentru TGO (ASAT), cât şi pentru TGP (ALAT), cu valori de: <300; 300-600; 700-900 şi ? 1000. Deşi aproape 1/3 din cazuri au înregistrat valori de <300 UI pentru TGO şi 10,4% pentru TGP, valori intermediare (300-900 UI) au fost semnalate în 51,6% din cazuri pentru TGO şi, respectiv, 33,9% pentru TGP. Valorile de =1000 UI s-au înregistrat la 21,3% din bolnavii investigaţi, pentru TGO şi, respectiv, 55,6% pentru TGP. Frecvenţa ridicată a valorilor medii şi cele crescute ale nivelurilor transaminazelor serice poate fi explicată şi prin structura de vârstă a pacienţilor spitalizaţi şi dificultăţile semnalate în depistarea şi spitalizarea precoce a cazurilor.

CONCLUZII

Deşi cu o evoluţie predominant benignă, îndeosebi la vârsta copilăriei, HVA poate evolua mai sever, fără a avea tendinţă la cronicizare.

Studiul pentru cei 277 bolnavi cu HVA confirmată prin spitalizare, a evidenţiat o incidenţă cu variaţii anuale imprimate de evoluţia epidemiologică din teritoriul respectiv. HVA nu a prezentat diferenţe pe sex, iar pe medii, acestea au fost cu semnificaţie redusă, cu un uşor avans pentru mediul rural. Lotul studiat a inclus bolnavii cu vârsta de 20-≥70 ani, iar incidenţa HVA pentru grupurile 20-40 ani a reprezentat 70,8% şi numai pentru 20-25 ani, 33,5% din total. Tendinţa de "adultizare" a HVA rezultă şi din faptul că aceasta a afectat vârsta 40-?70 ani în 25,9% din întregul lot studiat. Indicele de depistare nefavorabil a influenţat durata de spitalizare, care, în 19,5% din cazuri, a necesitat 16-20 zile şi în 9,7%

peste 21 zile. S-a păstrat caracteristica dominantă a HVA de a se manifesta cu intensitate clinică medie (80,1%). Nivelurile transaminazelor ASAT şi ALAT s-au corelat cu formele clinice, cu structura de vârstă a lotului de bolnavi cu HVA studiat şi cu dificultăţile semnalate în depistarea precoce a cazurilor.

BIBLIOGRAFIE

1. Bologa VL. O epidemie de icter în Braşov (1784-1785), descrisă de medicul Martinus Lange. *Stud Cercet Inframicrobiol* 1967 ; 2 : 119-124.
2. Voiculescu GhM. Hepatita virală A. In : Voiculescu GhM editor. *Boli infecţioase*. vol. II. Bucureşti : Ed. Medicală, 1990, 344-369.
3. Koff RS. Hepatitis A. *Lancet* 1998 ; 351 : 1643-1649.
4. Nelson KE. Global changes in the epidemiology of hepatitis A infections. *Clin Infect Dis* 2006 ; 42 (8) : 1151-1154.
5. Teodorovici Gr. Hepatitele virale. In : Teodorovici Gr editor. *Epidemiologia bolilor transmisibile*. Bucureşti : Ed. Medicală, 1978, 159-171.
6. Ivan A, Azoicăi D, Pisică-Donose G. Probleme actuale în epidemiologia şi prevenţia hepatitei virale A. *Rev Med Chir Soc Med Nat* 1993 ; 4 : 647-652.
7. Sabău M. Hepatita virală A. In : Ivan A editor. *Tratat de epidemiologia bolilor transmisibile*. Iaşi : Ed. Polirom, 2002, 262-269.

NOUTĂŢI

RELAŢIA DINTRE MUTAŢIILE GENEI GLUCOCEREBROZIDAZEI ŞI DEMENŢA CU CORPI LEWI

Un grup de cercetători americani a publicat un studiu care demonstrează că gena glucocerebrozidazei (GBA) poate fi considerată un marker al modificărilor patologice la nivel cortical în demenţa cu corpi Lewi, independent de prezenţa genotipului APOE şi de modificările patologice caracteristice bolii Alzheimer. Studiul (caz-control) a avut drept obiectiv demonstrarea existenţei unei legături între mutaţiile GBA, genotipul APOE4 şi caracteristicile patologice ale bolilor cu corpi Lewi şi Alzheimer. Lotul de studiu a fost alcătuit din 187 cazuri, dintre care 95 diagnosticate anatomo-patologic cu boală Lewi, cu sau fără modificări de boală Alzheimer (85 cazuri cu date clinice de demenţă), 60 cazuri selecţionate prin randomizare dintre pacienţii cunoscuţi cu demenţă Alzheimer fără modificări patologice semnificative caracteristice bolii cu corpi Lewi şi 32 cazuri martor. La subiecţii cu boală cu corpi Lewi cercetătorii au demonstrat că mutaţia ce apare constant la nivelul genei GBA este N370S ; de asemenea, aceştia au identificat o serie de mutaţii adiţionale care au fost raportate ca fiind prezente la cei cu boală Parkinson şi care sunt patogene pentru boala Gaucher. Mecanismul prin care mutaţiile de la nivelul genei GBA pot creşte riscul de declanşare a bolii cu corpi Lewi este incert, dar se pare că alterări ale GBA pot influenţa procesul de degradare a proteinelor lizozomale, crescând, implicit, riscul de exprimare aberantă a á-synucleinei şi, respectiv, a bolii cu corpi Lewi (Clark L, Kartsaklis L, Wolf Gilbert R et al. Association of glucocerebrosidase mutations with dementia with Lewy bodies. *Arch Neurol* 2009 ; 66 (5) : 578-583).

Raluca Ioana Prepeliţă

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

APORTUL MEDIU DE LEGUME LA UN LOT DE ELEVI DIN ORAŞUL IAŞI

L.L. Indrei[1,2], Adriana Albu[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Disciplina de Igienă - Sănătatea Mediului
Direcţia de Sănătate Publică Iaşi
2. Direcţia de Control în Sănătate Publică

AVERAGE VEGETABLE INTAKE IN A GROUP OF SCHOOLCHILDREN FROM IAŞI (Abstract) : Nutritional guidance must take into account the existing situation in order to obtain the desired effects. **Material and method** : Vegetable intake was assessed using a questionary for 127 teenagers (49 boys and 78 girls) from two high-schools in Iaşi. **Results** : More than 80% of teenagers use vegetables on a daily base and almost 50% in adequate amount. 7.08% admited an excessive intake of vegetables and 3.93% a lack of vegetable intake, with potential harmfull effects on health status. **Key words** : VEGETABLE INTAKE, DIETARY SURVEY, NUTRITIONAL HABIT

Alimentaţia unei persoane şi mai ales a unui copil trebuie atent monitorizată şi adaptată la necesităţi. Această studiere se realizează cu ajutorul anchetelor alimentare, metode prin care se apreciază alimentaţia pe grupe de alimente şi pe principii nutritive (1,2). La nivel populaţional ancheta alimentară se realizează pornind de la metoda chestionarului. Această metodă sa extins mult în ţările occidentale, unde au fost elaborate două tipuri mari de chestionare prin care : se înregistrează alimentele consumate în timpul unui interval scurt de timp (carnetul alimentar şi interogatoriul alimentar) ; se estimează aportul realizat pe perioade îndelungate (chestionarul de frecvenţă şi istoria alimentară) (3).

Chiar dacă aceste metode au avantaje şi dezavantaje, ele oferă specialiştilor şansa cunoaşterii alimentaţiei persoanelor provenite din familii. Utilizarea acestor metode este foarte importantă în prezent când se încearcă schimbarea obiceiurilor alimentare ale tinerilor şi orientarea acestora către o alimentaţie sănătoasă. Recomandările pe care le facem în acest sens trebuie să pornească de la cunoaşterea exactă a alimentelor consumate (nu are rost să insistăm asupra unor produse pe care tinerii le consumă deja din abundenţă). Înainte de a recomanda un aport crescut de legume şi fructe trebuie să cunoaştem cât mai exact posibil care este consumul obişnuit. (4)

MATERIAL ŞI METODĂ

Studiul s-a realizat pe un lot de 127 adolescenţi (cu vârste cuprinse între 15 şi 17 ani) proveniţi de la Colegiul Tehnic"Gh. Asachi" (64 elevi) şi de la Liceul Vasile Alecsandri (63 tineri) din Iaşi. Distribuţia pe sexe este neuniformă fiind chestionaţi 49 de băieţi (38,58%) şi 78 de fete (61,42%).

Aceşti tineri au completat un chestionar de frecvenţă a consumului alimentar, chestionar ce ne permite obţinerea consumul alimentar obişnuit (subiectul este chestionat

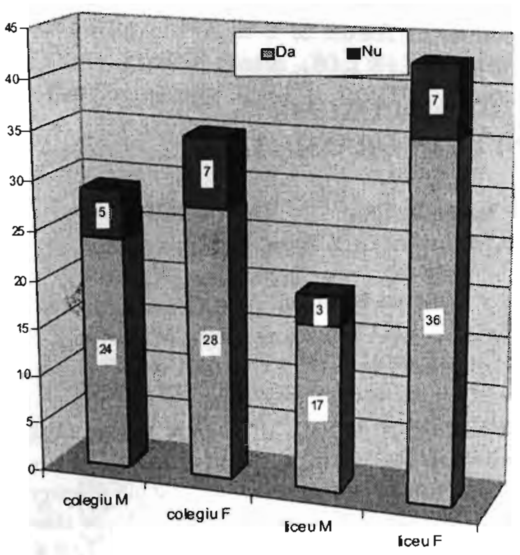


Fig. 1. Consumul de legume proaspete

în legătură cu frecvenţa consumului fiecărui aliment prezent pe listă). Prelucrarea statistică a rezultatelor s-a făcut cu ajutorul testului Pearson.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Legumele sunt produsele vegetale ce se particularizează printr-un conţinut crescut de glucide şi vitamine (în special vitamină C). Din păcate, ele au o valoare nutritivă modestă datorită conţinutului redus de proteine (cu excepţia leguminoaselor uscate). Proteinele prezente în legume au şi o valoare biologică medie, datorită existenţei unui aminoacid limitativ. În acest context aportul de legume trebuie să fie echilibrat.

Vitamina C se distruge cu uşurinţă prin prelucrare culinară, motiv pentru care este important consumul legumelor crude. Un astfel de consum apare doar în 82,67% din cazuri.

Consumul de legume proaspete este sănătos, dar scump chiar şi vara. Uneori familia recurge la realizarea unor preparate ce sunt avantajoase din punct de vedere economic, dar care au o valoare nutritivă modestă (ghiveci, zacuscă).

Pe colectivităţi observăm 81,25% răspunsuri pozitive la colegiu şi 84,12% răspunsuri pozitive la liceu, diferenţele constatate fiind nesemnificative statistic ($p > 0,05$) (fig. 1). Pe sexe observăm 83,67% răspunsuri pozitive la băieţi şi 82,05% astfel de răspunsuri la fete (diferenţe nesemnificative statistic).

Aceste rezultate evidenţiază obiceiuri alimentare asemănătoare pe colectivitate şi pe sex. Aprecierea pe sex este foarte importantă pentru fete, care ar fi tentate să le consume în cantităţi mari datorită aportului caloric redus (50 - 90 kcal pentru 100 g produs). Totuşi rezultatele sunt asemănătoare, ceea ce ne orientează către un consum obişnuit al familiilor elevilor chestionaţi şi nu către o preocupare obsedantă pentru aspectul corporal.

Legumele crude consumate sunt cele caracteristice zonei noastre geografice, astfel că asigurarea lor nu reprezintă o problemă deosebită pentru familie. Elevii au răspuns încercuind 2, 3 sau chiar mai multe variante ceea ce este un element pozitiv. Dacă nu se găseşte o legumă se poate găsi o alta deci se asigură consumul zilnic. În topul preferinţelor elevilor pentru legumele crude se plasează morcovul (66,14%), urmat de salată (46,45%) şi ardei gras (47,24%) (tab. I).

TABELUL I

Tipul de legume crude consumate

Legume	Morcovi	Spanac	Conopidă	Gulii	Salată	Ardei gras
Colegiu M	18	2	4	1	13	12
Colegiu F	27	3	4	4	19	19
Liceu M	14	1	2	2	9	7
Liceu F	25	-	8	1	18	22

TABELUL II

Frecvenţa consumului zilnic de legume

Scor	0	1	2 – 3	4 – de multe ori
Colegiu M	2	9	13	5
Colegiu F	-	14	18	3
Liceu M	2	11	7	-
Liceu F	1	19	22	1

Aceste rezultate apar în ambele colectivităţi şi la elevii de ambele sexe, ceea ce ne orientează către obiceiuri alimentare asemănătoare în familiile elevilor chestionaţi.

Un alt aspect important este reprezentat de frecvenţa cu care sunt consumate zilnic legumele. În chestionar sunt 5 variante de răspuns 0-1-2-3-4-de multe ori.

Varianta 1 corespunde unui consum mic, variantele 2 - 3 unui consum mediu, iar 4-de mai multe ori unui aport mare. Pe tot lotul sunt dominante situaţiile în care consumul este mediu (47,24%) urmate de cele cu un consum mic (41,73%). Din păcate un consum mediu de legume se poate asocia cu reducerea aportului altor grupe de alimente ceea ce nu este de dorit. Mult mai gravă este situaţia a 7,08% elevi care recunosc un consum mare de legume, ceea ce indică clar un aport insufucient pentru o altă grupă de alimente. La polul opus se plasează 3,93% elevi ce nu consumă zilnic legume ceea ce este de asemenea grav. Ei îşi asigură necesarul nutritiv prin alte grupe de alimente ce pot avea o valoare calorică mare (de exemplu prin derivate de cereale) (tab. II).

Pe sex observăm la băieţi un consum mediu (40,81%) sau mic (40,81%), iar la fete un consum tot mediu (51,28%) sau mic (42,3%), astfel că diferenţele constatate sunt nesemnificative statistic ($p > 0,05$). Rezultatele reflectă o alimentaţie asemănătoare a familiilor elevilor luaţi în studiu.

Afirmarea unui consum mediu de legume este susţinută şi de rezultatele obţinute la întrebarea legată de consumul legumelor la gustare. Pe tot lotul remarcăm 52,75% răspunsuri pozitive ceea ce explică consumul legumelor de 2 - 3 ori pe zi (fig. 2).

Astfel de răspunsuri apar în 56,25% cazuri la colegiu şi în 49,2% situaţii la liceu (diferenţele constatate sunt nesemnificative statistic). De asemenea, răspunsurile pozitive apar atât la sexul masculin (51,02%) cât şi la cel feminin (55,12%), diferenţele constatate fiind nesemnificative statistic ($p > 0,05$).

La elevii din lotul de studiu consumul de legume este adecvat sau chiar mare, astfel că recomandarea unor suplimente de legume nu este necesară. O astfel de recomandare pusă în practică ar putea duce la apariţia unui consum insuficient al altor grupe de alimente.

CONCLUZII

Legumele proaspete asigură o mare parte din necesarul zilnic de vitamină C. La elevii din lotul de studiu acest consum este afirmat în 82,67% cazuri. Atrag atenţia

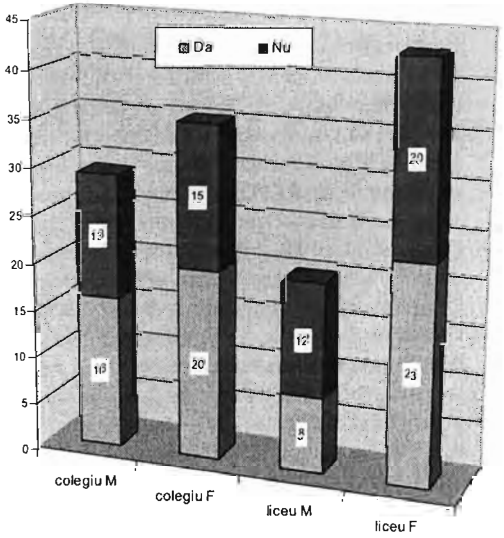


Fig. 2. Consumul de legume la gustare

17,33% răspunsuri negative, ceea ce reprezintă o problemă pentru starea de sănătate a elevilor. Răspunsurile pozitive sunt prezente atât la colegiu (81,25%) cât şi la liceu (84,12%), astfel că diferenţele constatate sunt nesemnificative statistic.

Răspunsuri afirmative apar la 83,67% băieţi şi 82,05% fete, diferenţele constatate fiind nesemnificative statistic. Consumul de legume crude este asemănător în familiile elevilor chestionaţi.

Legumele preferate sunt cele autohtone, reprezentate de morcovi, salată sau ardei gras. În majoritatea cazurilor consumul de legume este mediu (47,24%) sau mic (41,73%), dar există şi situaţii în care el este chiar prea mare (7,08%). Consumul dominant mediu şi mic apare în ambele colectivităţi şi la ambele sexe ceea ce orientează către o alimentaţie asemănătoare.

În jumătate din cazuri elevii consumă legume şi la gustare.

Astfel de studii sunt importante deoarece permit cunoaşterea alimentaţiei populaţiei şi orientează programele naţionale de sănătate către problemele reale ale acesteia. Nu are rost să propunen suplimentarea unui produs alimentar ce este adecvat consumat de populaţie.

BIBLIOGRAFIE

1. Cynober L, Aussel C. *Exploration de l'état nutritionnel*, Paris: Éditions Médicales internationales, 1998.
2. Webster-Gandi J, Madden A, Holdsworth M. *Oxford Handbook of Nutrition and Dietetics*. New York: Oxford Univerity Press, 2006.
3. Ricour C, Ghisolfi J, Putet G, Goulet O. *Traité de nutrition pédiatrique*. Paris: Maloine, 1993.
4. Apfelbaum M, Romon M, Dubus M. *Diététique et nutrition*. Paris: Masson, 2004.

NOUTĂŢI

ERITROPOETINA ŞI DEZVOLTAREA PSIHOMOTORIE A PREMATURILOR

Cercetătorii implicaţi în acest studiu au emis ipoteza că doze mari cumulative de eritropoietină recombinantă (REPO) pentru sugarii prematuri în primele 6 săptămâni ar contribui la îmbunătăţirea dezvoltării, evidenţiată în evaluările cu Balanta Bayley de dezvoltare pentru sugari. Acesta a fost un studiu retrospectiv de cohortă, fiind implicaţi 366 sugari cu mai puţin de 1500 grame şi 30 de săptămâni de gestaţie, care a fost creat iniţial pentru a examina asocierea dintre un tratament de tip REPO şi retinopatia de prematuritate. Asociaţiile dintre doze mari de tip REPO şi Scala de dezvoltare psihomotorie şi mentală au fost estimate folosind mijloace statistice. Rezultatele au fost următoarele: optzeci şi doi de nou-născuţi au suferit evaluări ale dezvoltării după 12 luni. Vârsta mediană de evaluare fiind de 25 luni. Doza cumulată REPO a fost 3750 U/kg. În cadrul analizei, scorurile privind dezvoltarea psihomotorie au fost asociate cu transfuziile primite, sexul feminin, greutatea la naştere, şi scorul Apgar. Scorurile privind dezvoltarea mentală au fost asociate cu doza de REPO, sexul feminin, tratamentul prenatal cu steroizi pentru mai mult de 48 de ore şi alăptare cu laptele matern. În concluzie, aceste corelaţii identifică o relaţie doză-răspuns între tratament de tip REPO şi îmbunătăţirea scorurilor privind dezvoltarea psihomotorie (Brown MS, Eichorst D, LaLa-Black B et al. Cumulative doses of erythropoietin and developmental outcomes in preterm infants. *Pediatrics* 2009; 124: 681-687).

Ecaterina Rusu

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

MEDICINĂ PREVENTIVĂ - LABORATOR **ARTICOLE ORIGINALE**

DATE DE MANAGEMENT SPITALICESC PRIVIND CAZURILE DE URGENŢĂ DIN ROMÂNIA ÎN 2007

Monica Tarcea[1], Corina Zugravu[2], J. Szavuj[3], Hajnal Finta[1], F. Patraulea[4], F. Szasz[5]
Universitatea de Medicină şi Farmacie Târgu-Mureş
Facultatea de Medicină
1. Disciplina de Igienă
4. Disciplina de Chirurgie pediatrică
Universitatea de Medicină şi Farmacie Bucureşti
Facultatea de Medicină
2. Disciplina de Igienă
3. Disciplina de Microbiologie
Spitalul Clinic Judeţean şi de Urgenţă Târgu-Mureş
5. Secţia de Obstretică-Ginecologie

MANAGEMENT DATA REGARDING EMERGENCY CASES HOSPITALIZED IN ROMANIA IN 2007 (Abstract): We evaluated the main aspects regarding the management of emergency hospitalized cases from Romania in 2007, by following the frequency of main diagnosis, their distribution by place and hospital and hospital indicators. **Material and method**: We collected our data from the Insurance Houses and National Institute of Statistics. **Results**: Emergency cases represented in 2007 half of total cases hospitalized in Romania. Women are more frequent hospitalized then man or children. The Romanian South-East area had the highest frequency of emergency cases hospitalized. From all types of deceased cases, the emergency cases had the highest frequency. In emergency, the main category of diagnosis by frequency is "pregnancy, birth and recently given birth", much higher than non-emergency cases registered, also at the Obstretics-Gynecology and Emergency Hospitals. The medium period of days hospitalized for emergency cases was one week time. Most of the emergency cases are healed comparing to non-emergency ones. **Conclusions**: The main problem of hospitals in Romania is related to health services financing, costs for health care are still growing but also did the quality of health services and number of cases coming in emergency rooms. **Key words**: HOSPITAL MANAGEMENT, EMERGENCY MANAGEMENT, DRG, HEALTH SERVICES

Internările în urgenţă reprezintă o mare parte din spitalizări şi cu mortalitatea cea mai ridicată dintre toate tipurile de internări.

Cazurile internate în urgenţă implică costuri deosebite, atât pentru intervenţiile care se impun datorită specificului, cât şi transportului (ambulanţe dotate cu echipamente corespunzătoare, transport aerian).

Reorganizarea sistemului de asistenţă de urgenţă (spitale regionale, puncte judeţene), indică o preocupare gândită a gestiona mai bine cazurile de acest gen, ceea ce înseamnă pacienţi trataţi corespunzător în timp util. Astfel, se poate evita spitalizarea excesivă datorată complicaţiilor, adică costuri mai mici şi resurse financiare sau umane folosite în mod eficient (1,2,3).

Conform recomandărilor Organizaţiei Mondiale a Sănătăţii (OMS) politicile de sănătate dintr-o ţară au scopul de a îmbunătăţi starea de sănătate a populaţiei prin mijloace preventive şi curative (4,5).

Am urmărit principalele aspecte de management şi statistică a cazurilor spitalizate în sistem de urgenţă, la noi în ţară, corespunzător anului 2007. Se încearcă identificarea principalelor cauze de internare, distribuţia acestora şi ponderea în urgenţă, cu distribuţie judeţeană.

MATERIAL ŞI METODĂ

Analiza se referă la toate spitalele din ţară, pentru anul 2007, iar datele au fost luate de la Casele de Asigurări de Sănătate Judeţene şi Institutul naţional de statistică (6,7,8).

Evaluarea cuprinde mai multe aspecte, printe care :

- evaluarea magnitudinii fenomenului : cât reprezintă cazurile respective în totalul cazurilor spitalizate
- evaluarea tipurilor de boli (grupe de diagnostic şi diagnostice principale)
- împărţirea pe zone, judeţe, spitale a cazurilor
- evaluarea duratei medii de spitalizare.

Pentru comparaţie, s-a exprimat în general ponderea indicatorului din total, din urgenţe şi din nonurgenţe. Prelucrarea datelor s-a realizat cu ajutorul programul *SPSS*, versiunea 10.

REZULTATE

Ponderea totală a internărilor în urgenţă

Internările în urgenţă reprezintă cel mai frecvent tip de internare, aproape jumătate din totalul cazurilor (fig. 1), cu o frecvenţă de 48,37% faţă de internările prin trimitere de la medicul de familie sau medicul specialist (25%).

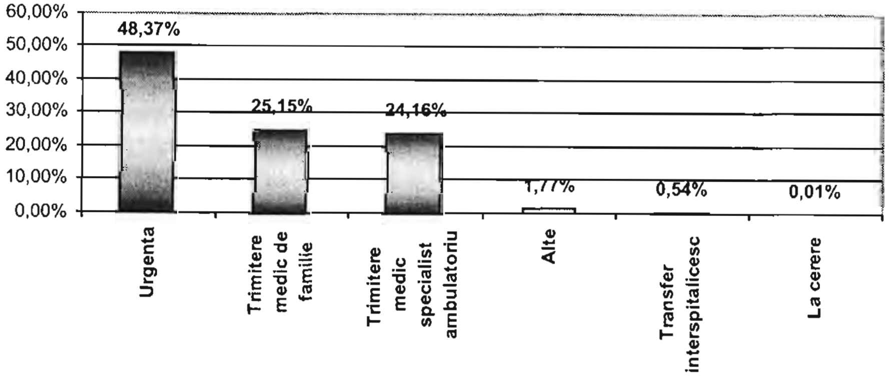


Fig. 1. Frecvenţa tipurilor de internare din spitale, în 2007

Acest procent mare poate semnifica o diagnosticare abuzivă ca urgenţă a cazurilor sosite în camera de gardă, dar şi un posibil model de comportament al pacientului, care mai degrabă aşteaptă să se agraveze o afecţiune decât să se controleze din timp şi să se trateze.

Ponderea internărilor în urgenţă pe judeţe

Ponderea urgenţelor din totalul internărilor variază între 36 şi 61% dacă urmărim domiciliul pacientului, respectiv între 33 şi 69% dacă studiem în ce judeţ se află spitalul.

În ambele cazuri, judeţele cu cele mai ridicate procente de urgenţe sunt aproape aceleaşi : Galaţi, Vrancea, Călăraşi, Ialomiţa (tab. I).

Ponderea internărilor în urgenţă pe spitale şi secţii

Cele mai multe cazuri le vom găsi în spitalele de specialitate "urgenţă" sau cele de obstetrică-ginecologie (conform analizelor anterioare privind diagnosticul). În ceea ce priveşte ponderea cazurilor urgente din totalul cazurilor spitalizate, situaţia arată astfel : toate cazurile internate la Spitalul de obstetrică-ginecologie din Galaţi şi cel din Buftea erau în urgenţă, fiind urmate ca pondere de alte spitale din ţară (în tabelul II am evidenţiat primele zece locuri ocupate).

TABELUL I

Ponderea urgenţelor din totalul internărilor

Judeţ pacient	% urgenţe	% non-urgenţe	Judeţ / spital	% urgenţe	% non-urgenţe
GALAŢI	60,77	39,23	IALOMIŢA	68,93	31,07
VRANCEA	60,64	39,36	CĂLĂRAŞI	67,79	32,21
CĂLĂRAŞI	57,98	42,02	VRANCEA	67,02	32,98
CONSTANŢA	57,93	42,07	BUZĂU	66,52	33,48
BUZĂU	57,83	42,17	GALAŢI	62,78	37,22
DOLJ	39,48	60,52	BUCUREŞTI	37,15	62,85
IAŞI	38,58	61,42	TIMIŞ	36,86	63,14
HARGHITA	38,56	61,44	COVASNA	35,90	64,10
VASLUI	38,44	61,56	CLUJ	33,76	66,24
BISTRIŢA-NĂSĂUD	36,19	63,81	IAŞI	32,68	67,32

TABELUL II

Ponderea internărilor în urgenţă pe spitale

Spital	% urgenţe	% non-urgenţe
Spitalul de obstetrică-ginecologie "Buna Vestire" Galaţi	100,00	0,00
Spitalul de obstetrică-ginecologie "Dr. Maria Burghel" Buftea	100,00	0,00
Spitalul de obstetrică-ginecologie Botoşani	99,41	0,59
Spitalul clinic de urgenţă Floreasca	97,47	2,53
Spitalul de obstetrică-ginecologie Ploieşti	94,21	5,79
Spitalul clinic obstetrică-ginecologie "Dr.D.Popescu" Timişoara	93,43	6,57
Spitalul orăşenesc Făurei	89,29	10,71
Spitalul de obstetrică-ginecologie Rm.Vâlcea	88,43	11,57
Centrul de cardiologie Craiova	88,35	11,65
Spitalul orăşenesc Hârşova	88,33	11,67

Cele mai multe cazuri au fost externate de pe secţiile de medicină internă.

Procentele sunt mult mai mari pentru anumite secţii de urgenţă faţă de non-urgenţă. În primele locuri se regăsesc şi secţiile destinate nou născuţilor şi naşterilor (fig. 2).

Ponderea internărilor în urgenţă pe sexe

Ponderea femeilor în internările de urgenţă este mai mare decât a celor internate în non-urgenţă sau în totalul cazurilor (de 58,73% faţă de 41,27% la bărbaţi) (fig. 3). Există o diferenţă înalt semnificativă statistic între ponderea femeilor faţă de cea a bărbaţilor internaţi în regim de urgenţă ($p<0,0001$ şi un RR=1,056, la un IC de 95% : 1,042 la 1,070).

Ponderea internărilor în urgenţă pe grupe de vârstă

Analiza grupei de vârstă a cazurilor internate în urgenţă reflectă situaţia distribuţiei pe sex şi diagnostic. Sunt reprezentate mai ales grupele de vârstă : nou-născut (vârste foarte mici), gravidă (sarcină, avort – vârsta medie), persoane în vârstă (afecţiuni cardiovasculare) (tab. III).

Vârsta medie a persoanelor internate în urgenţă a fost de 37,8 ani.

Ponderea internărilor în urgenţă pe diagnostic

Ponderea cazurilor chirurgicale pentru internările în urgenţă este cu doar 1,5% mai mare faţă de cea a internărilor non-urgenţă, respective internările pe diagnostic medical sunt de peste 3 ori mai frecvente decât cele pe diagnostic chirurgical (78,94% faţă de 21,03%) Apare o diferenţă

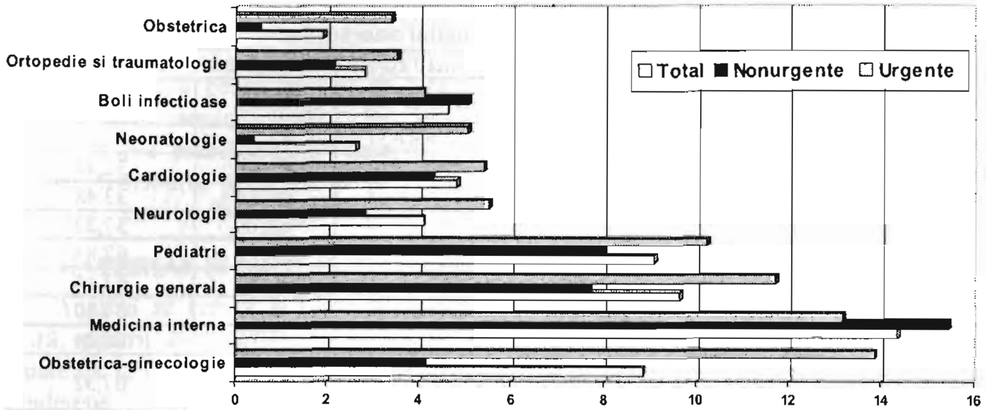


Fig. 2. Ponderea cazurilor internate în urgenţă pe secţii

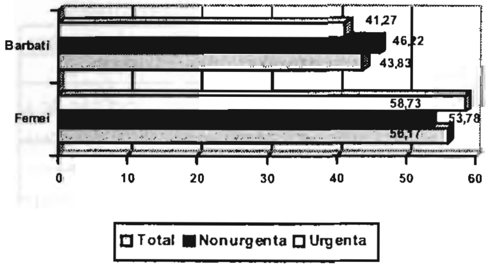


Fig. 3. Ponderea internărilor în urgenţă distribuită pe sexe

înalt semnificativă statistic pozitivă între internările de urgenţă de ordin medical faţă de cele chirurgicale de urgenţă ($p < 0,0001$ şi un $RR = 1,044$, la un IC de 95% : 1,028 la 1,060) (fig. 4).

Pentru urgenţe, prima categorie majoră de diagnostic este „Sarcină, naştere şi lăuzie" ; ponderea acestei categorii are valoare mult mai mare faţă de non-urgenţă, la fel ca şi categoria „Nou-născut sănătos şi bolnav" (tab. IV). Primele trei diagnostice principale sunt legate de nou născut sau sarcină (în total 10% din cazuri). De asemenea, analiza pe grupe de vârstă a reflectat această situaţie. Ponderea internărilor în urgenţă după diagnosticul principal arată o clasificare pe primele trei locuri a diagnosticului "Naştere spontană prin prezentarea capului" cu 5,05%, urmată de "Copil unic, născut în spital" cu 2,99%, respectiv "Iminenţa de avort" cu 2,13% frecvenţă.

Analiza prezenţei comorbidităţilor şi a numărului diagnosticelor secundare poate da o măsură a complexităţii cazurilor internate în regim de urgenţă.

Aproximativ 80% din cazuri, atât în urgenţă cât şi în non-urgenţă, prezintă comorbidităţi. Mai mult de jumătate (≈ 60%) din cazuri au 1-4 diagnostice secundare, fără ca diferenţa ponderii între urgenţă/non-urgenţă să fie semnificativă (tab. V).

Sunt diferenţe foarte mari în ceea ce priveşte procedurile principale efectuate, cu predominenţa naşterilor spontane şi apendicectomiilor: pe primul loc ca pondere se află naşterea spontană în prezentaţie craniană (10,7% în urgenţă şi 0,92% în non-urgenţă), apendicectomia (9,3% şi 5,22%), dilatarea şi chiuretajul după avort sau pentru întrerupere de sarcină (6,33% şi 1,59%), cezariana de urgenţă (4,84% şi 0,57%) şi epiziotomia (4,73% şi 0,44%).

TABELUL III

Ponderea internărilor în urgenţă pe grupe de vârstă

Grupa de vârstă	% urgenţă	% non-urgenţă	% total
0-14 ani	21,85	15,28	18,46
25-29 ani	7,84	3,52	5,61
30-49 ani	14,22	9,25	12,38
50-54 ani	6,61	11,92	9,35
65-69 ani	6,56	8,71	7,67
peste 70 de ani	7,74	6,71	7,21

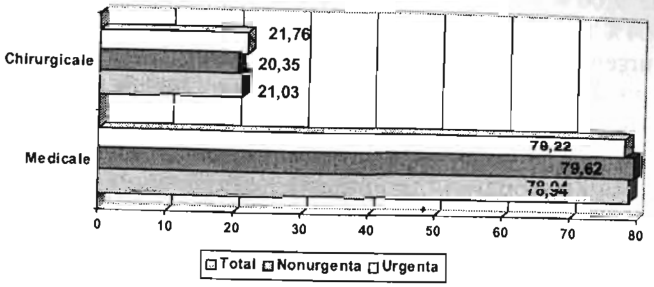


Fig. 4. Ponderea internărilor în urgenţă pe diagnostic

TABELUL IV

Ponderea internărilor în urgenţă pe categorii majore de diagnostic

Categorie majoră de diagnostic	% urgenţă	% non-urgenţă	% total
Sarcină, naştere şi lăuzie	14,30	2,29	8,10
Boli şi tulburări ale sistemului respirator	10,94	12,28	11,63
Boli şi tulburări ale sistemului circulator	9,86	11,16	10,53
Boli şi tulburări ale aparatului digestiv	8,89	8,53	8,71
Nou născut sănătos şi bolnav (perioada perinatală)	7,54	0,79	4,05

TABELUL V

Ponderea internărilor în urgenţă funcţie de diagnosticul secundar, comorbiditate

Nr. diagnostice secundare	% urgenţă	% non-urgenţă	% total
0	19,30%	22,65%	21,03%
1-2	34,82%	36,42%	35,64%
3-4	24,03%	22,95%	23,47%
5-10	20,31%	17,28%	18,75%
peste 10	1,54%	0,71%	1,11%

TABELUL VI

Ponderea cazurilor din urgenţă la externare

Starea la externare	% urgenţă	% non-urgenţă	% total
Ameliorat	55,2	66,29	60,93
Vindecat	39,75	24,76	32,01
Staţionar	2,86	8,26	5,65
Decedat	1,51	0,40	0,94
Agravat	0,67	0,28	0,47

Ponderea internărilor în urgenţă pe stare la externare

Peste jumătate din persoanele internate în urgenţă se externează cu o stare ameliorată (dar sub media de 61% din total internări), în timp ce 40% sunt vindecaţi.

Procentul celor vindecaţi este mai mare faţă de media tuturor internărilor (40% faţă de 32%). Şi procentul de decedaţi, datorită complexităţii cazurilor, este mai mare (tab. VI).

Analiza duratei de spitalizare în internările de urgenţă

Durata de spitalizare pentru internările în urgenţă are ponderea cea mai mare de 3-6 zile faţă de restul (de 43,04%) şi anume : la 0-1 zile are o frecvenţă de 6,24% în urgenţă faţă de non-urgenţă, la 2 zile are o frecvenţă de 9,06% faţă de 8,97%, la 3-6 zile are 43,04% faţă de 34,3%, la 7 zile are 10,40% în urgenţă faţă de 12,27%, la 8-14 zile are o pondere de 17,21% în urgenţă faţă de 29,16% în non-urgenţă, iar pentru peste 14 zile s-au înregistrat în urgenţă 7,97% din cazuri respective în non-urgenţă 9,5% din cazuri.

Durata medie de spitalizare pentru internările în urgenţă a fost de 7,08 zile, cea mai mică dintre toate tipurile de internări, comparativ cu 7,64 de zile din internările trimise de medicul de familie, 8,41 zile din internările trimise de medicul specialist, 10 zile din internările la cerere şi 19,41 de zile pentru internările prin transfer interspitalicesc.

Nu se remarcă o „preferinţă" a internărilor în urgenţă în ceea ce priveşte perioada lunii, şi nici în mod deosebit legat de zilele de sărbătoare. Singura perioadă care poate fi asociată de urgenţe ar fi sfârşitul de an (reamintim faptul că analiza a fost făcută asupra cazurilor externate în perioada ianuarie-mai, incluzând deci o parte din cazurile internate în decembrie).

Evoluţia numărului de cazuri pe zile a săptămânii arată că indiferent de tipul de internare, primele zile sunt mai aglomerate; urgenţa este cea mai ponderată, variaţia în cursul celor şapte zile fiind de maxim 10% (între 19,7% luni şi 9,3% duminică).

DISCUŢII

Urgenţele reprezintă jumătate din totalul cazurilor.

Ponderea cazurilor medicale/chirurgicale nu diferă faţă de ponderea generală.

Femeile au o pondere superioară în internările de urgenţă în raport cu bărbaţii, iar copiii au cele mai mici frecvenţe.

Ponderea persoanelor de vârstă 0-14 şi 25-29 ani este mai mare decât în non-urgenţă.

Ponderea celor decedaţi este mai mare faţă de alte tipuri de internări.

În urgenţă, cea mai bine reprezentată categorie de diagnostic este "sarcina, naşterea şi lăuzia", având o pondere mult mai mare faţă de non-urgenţe.

Cea mai mare pondere de urgenţe o au spitalele de Obstetrică-Ginecologie şi cele de Urgenţă.

Procedura principală cea mai des întâlnită este "naşterea spontană în prezentaţie craniană".

Cazurile vindecate sunt mai frecvente faţă de non-urgenţă.

Zona geografică de Sud-est are cea mai mare pondere de cazuri internate în urgenţă.

Deşi per total internările se fac mai ales în primele zile ale săptămânii, pentru urgenţă procentul este mai ponderat.

Este greu de evaluat comparativ aceste date pentru că au apărut modificări în modalitatea de înregistrare a datelor de la un an la altul, dar per total, faţă de ultimii doi ani, în 2007 au crescut cazurile internate în urgenţă pe aceleaşi secţii, mortalitatea a rămas aceeaşi, la fel şi spitalele de elecţie, durata medie de spitalizare şi predominanţa sexului feminin (9,10,11,12).

CONCLUZII

Internările în urgenţă reprezintă o mare parte din spitalizări şi cu mortalitatea cea mai ridicată dintre toate, cu predilecţie pe secţiile de terapie intensivă şi chirurgie.

În urgenţă, cele mai frecvente cazuri sunt cele ale femeilor, cele din spitalele mari de urgenţă şi obstetrică-ginecologie, cele din zona de Sud-est a ţării, cele de pe secţiile de obstetrică-ginecologie, cele cu o durată medie de spitalizare de o săptămână şi care sunt majoritar vindecate.

Problemele esenţiale ale spitalelor sunt legate de finanţarea serviciilor de sănătate, costurile îngrijirilor de sănătate fiind în continuă creştere. Sistemul de îngrijiri se confruntă cu creşterea cheltuielilor dar şi cu necesitatea utilizării optime a resurselor; în acest context, problemele care apar sunt legate de tipul de servicii care vor fi furnizate prioritar, costurile acestora şi în ce măsură se îmbunătăţesc indicatorii de sănătate (13,14,15).

Implementarea managementului de spital este importantă în vederea:

- administrării mai eficiente a sistemului sanitar în întregime şi prioritar spitalele, pentru de-birocratizarea sistemului şi creşterea atribuţiilor şi competenţelor managerilor de spital
- pentru îmbunătăţirea eficienţei şi calităţii serviciilor de spital, prin îmbunătăţirea indicatorilor de calitate
- pentru diminuarea pierderilor de resurse financiare
- modelarea activităţii de spital adaptată cerinţelor proprii.

MULŢUMIRI

Mulţumim Casei Judeţene de Asigurări de Sănătate Mureş şi Dnei dr. Csiki Zsuzsana pentru contribuţia importantă în realizarea studiului şi materialul suplimentar asigurat.

BIBLIOGRAFIE

1. Ritchie J, Power C, Hughes J. *Using Individual Emergency Patients Needs for Nursing Human Resources Planning*. Canadian Health Services Foundation, 2003.
2. Vlădescu C, Rădulescu S, Olsavszky V. Sisteme de sănătate în tranziţie. România, 2000. *Observatorul European al Sistemelor de Sănătate*. Organizaţia Mondială a Sănătăţii - Biroul Regional pentru Europa, Bucureşti, 2000.
3. *** The appropriate role of the hospital. *European Observatory on Health Care Systems*, WHO, Regional Office for Europe, Copenhagen, 1998.
4. *** *AUPHA - Users Guide*. Association of University Programs in Health Administration, 2007.
5. *** *The World Health Report 2007. Health Systems: Improving Performance*. www.who.int/whr/2007/en.
6. *** Institutul Naţional de Statistică. *Anuarul Naţional de Statistică al României - 2007*. Bucureşti, 2008.
7. *** Legea nr. 24/2000 privind normele de tehnică legislativă pentru elaborarea actelor normative.
8. *** Legea nr. 95 din 14 aprilie 2006 privind reforma în domeniul sănătăţii. *Monitorul Oficial* nr.372 din 28.04.2006, Titlul VII Spitalele.
9. Bara AC, Van den Heuvel W, Maarse JA. Reforms of the health care system in Romania. *Croatian Med J* 2002; 43: 446-252.
10. Reed MJ. Management of syncope in the Emergency department. *Minerva Med* 2009; 100 (4): 259-273.
11. Rajabali NA, Tsuyuki RT, Sookram S, Simpson SH, Welsh RC. Evaluating the views of paramedics, cardiologists, emergency department physicians and nurses on advanced prehospital management of acute ST elevation myocardial infarction. *Can J Cardiol* 2009; 25 (9): 323-328.
12. McKee M, Healy J. Hospitals in a changing Europe. *European Observatory on Healthcare Systems, series Open University Press*. OMS, 2002.
13. Vlădescu C. *Managementul serviciilor de sănătate*. Bucureşti: Ed. Expert, 2000.
14. Bach S. *Human Resources and New Approaches to Public Sector Management: Improving HRM Capacity*. WHO, Department of Organization of Health Services Delivery, 2001.
15. Hornby P, Forte P. *Guidelines for Introducing Human Resources Indicators to Monitor Health Services Performance*. Centre for Health Planning and Management, Keele University, 2002.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

MONITORIZAREA INCIDENŢEI INFECŢIEI CU *NEISSERIA GONORRHOEAE* ŞI A REZISTENŢEI ACESTEIA ÎN JUDEŢUL SUCEAVA

Silvia Filipiuc[1,2], Odette Nicolae[3], Cătălina Luncă[2], Luminiţa Smaranda Iancu[2, 4] .
Direcţia de Sănătate Publică Suceava
1. Laboratorul de Microbiologie
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
2. Disciplina de Microbiologie
3. Centrul de Prevenire şi Control al Bolilor Transmisibile
4. Institutul de Sănătate Publică Iaşi

THE MONITORING OF *NEISSERIA GONORRHOEAE* INFECTION INCIDENCE AND ITs RESISTANCE IN SUCEAVA COUNTY (Abstract): *Neisseria gonorrhoeae* infection is one of the most frequent infections transmitted on sexual intercourse. In the last decades, a significant numbers of gonococcus strains were resistant to penicillin, tetracycline, quinolones and, in the last period, resistant to 3rd generation cephalosporines too. The purpose of this study was to monitor the trend of *N. gonorrhoeae* isolates from 2004-2008, in Suceava County, North-East region of Romania. **Material and method**: Antimicrobial susceptibility of *N. gonorrgoeae* isolates from clinical cases in 48 males and 12 females to penicillin, tetracycline, amoxicillin, augmentin, clarithromycine, ciprofloxacin, and ceftriaxone, was determine by disc diffusion method, using WHO reference strains and NCCLS criteria of interpretation. The isolation and identification of *N. gonorrgoeae* strains was carried out using classical microbiological algorithm, and miniAPI galleries. **Results**: A high proportion of strains were resistant to tetracycline and penicillin (70 and 80% respectively); 95% of strains were sensitive to ceftriaxone, one strains was resistant and 2 of them (3.33%), intermediate resistant. For all other tested antibiotics the level of resistant strains varied from 55 to 65%. **Conclusion**: The present study is the first one regarding the level of antibiotics resistance of *N. gonorrhoeae* strains in Suceava County. Penicillin, tetracycline, ciprofloxacin, clarithromycine, amoxicillin, and augmentin can not be indicated as treatment of *N. gonorrhoeae* infection because of high level of resistance. An active and comprehensive studies for monitoring and surveillance of antimicrobial resistance of *N. gonorrhoeae* needs to be established in all regions of the country, as support of new therapeutical treatment scheme. **Key words**: *NEISSERIA GONORRHOEAE*, SUSCEPTIBILITY, ANTIBIOTICS, CEFTRIAXONE, TREATMENT

Infecţia cu *Neisseria gonorrhoeae* este una dintre cele mai frecvente boli cu transmitere sexuală, fiind depăşită doar de virusurile papilloma umane şi *Chlamydia trachomatis* (1,2). Prevalenţa infecţiei gonococice, între 15 şi 49 de ani, variază intre 0,6% în Asia de Sud-est şi 10% în ţările dezvoltate economic; valorile raportate pentru România, fiind cuprinse între 2,96% (2008) şi 9,75% (2004), cu o incidenţă de 39 cazuri/ 100.000 locuitori, respectiv 357 cazuri/ 100.000 (3).

În ultimii ani, a fost semnalată, pretutindeni în lume, creşterea alarmantă a rezistenţei faţă de penicilină, tetraciclină, quinolone, dar şi faţă de cefalospirine de generaţia a 3-a, în ţări ca India şi China, motiv pentru care testarea sensibilităţii faţă de acestea, a devenit obligatorie (1,2,4). Extinderea studiilor privind rezistenţa gonococului la antibiotice, inclusiv prin metode cantitative este pe de o parte obligatorie, deoarece stă la baza argumentării reconsiderării schemelor terapeutice, dar şi pe de altă parte dificilă, din cauza particularităţilor de izolare şi testare *in vitro*.

MATERIAL ŞI METODE

Cu sprijinul a 14 medici specialişti din judeţul Suceava, implicaţi în diagnosticul clinic şi tratarea cazurilor suspecte de gonoree, utilizând definiţia de caz a OMS, am selectat 60 de pacienţi, dintr-un total de 254, care au primit explicaţii detaliate, în vederea semnării consimţământului informat. Dintre cei 60 de pacienţi, 12 au fost femei, lotul studiat având vârste cuprinse între 17 şi 57 de ani, cu o medie de vârstă de 29 de ani.

După recoltarea secreţiei uretrale şi endocervicale cu tampoane de vată atoxică, probele au fost transportate pe mediu Amies şi însămânţate pe medii cu geloză-chocolat bază, 1% hemoglobină, şi 1% supliment nutritiv IsoVitalex, selective şi neselective; plăcile au fost incubate în atmosferă umedă, cu 5% CO_2, pentru 24-72 ore. Identificarea s-a bazat pe rezultatele frotiului Gram din produs patologic, a testului oxidazei şi a galeriilor comerciale API-NH (*Neisseria-Haemophilus*), care permit şi evidenţierea produceri de β lactamază. Antibiograma tulpinilor izolate şi identificate ca gonococ s-a realizat prin metoda Kirby Bauer, conform standardelor NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standard*), pentru: penicilină (P), tetraciclină (T), amoxicilină (AMX), augmentin (AMC), claritromicină (CL), ciprofloxacină (CIP) şi ceftriaxonă (CRO). Ca tulpini de control, s-au utilizat tulpinile de *Neisseria gonorrhoeae* ATCC 49226, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Proteus mirabilis* ATCC 43071; (5,6,7, 8,9) prelucrarea datelor s-a realizat utilizând programele EpIData.

REZULTATE

Pentru antibioticele testate prin metoda difuzimetrică, rezultatele sunt redate numeric şi procentual în tabelul I: 95% dintre tulpini au fost sensibile (S) la CRO (57/60), o tulpină a fost rezistentă (R), iar 2 tulpini (3,33%), intermediar rezistente (IR). Folosind criteriile interpretative ale standardului NCCLS, 31 de tulpini s-au dovedit a fi producătoare de β lactamază, iar 9 tulpini R la P, dar neproducătoare de β lactamază. În total, 42 de tulpini (respectiv 70%) au fost R la P, iar 80% (48/60), R la T; 3 tulpini s-au încadrat in limitele nivelului intermediar de rezistenţă (IR). 33 dintre tulpini au fost R la CIP, iar 8 dintre ele, respectiv 13,33%, IR. Pentru celelalte antibiotice: incidenţa tulpinilor rezistente s-a situat între 55 şi 65%, iar cele IR, între 5 şi 16% (tab I.)

TABELUL I

Rezultatele antibiogramei difuzimetrice pentru 60 de tulpini de *Neisseria gonorrhoeae* izolate, în perioada 2004-2008

Antibiotic	μg/UI	Rezistent		Intermediar rezistent		Sensibil	
		Nr. (+)	%	Nr. (+)	%	Nr. (+)	%
Ceftriaxona (CRO)	30	1	1,67	2	3,33	57	95
Penicilina (P)	10	42	70	9	15	9	15
Tetraciclina (T)	30	48	80	3	5	9	15
Amoxicilina (AMX)	10	36	60	10	16	14	23,33
Augmentin (AMN)	30	35	58,33	8	13,33	17	28,33
Claritromicina (CL)	15	33	55	4	6,67	23	38,33
Ciprofloxacina (CIP)	5	33	55	8	13,33	19	31,67

DISCUŢII

Dificultăţile de izolare ale *N. gonorrhoeae* determină de cele mai multe ori, stabilirea diagnosticului de laborator doar pe seama frotiului, ştiut fiind că în context clinico-epidemiologic sugestiv, eficienţa microscopiei este de 0,98 (5). Rezultatele noastre reprezintă prima sinteza privind rezistenţa *N. gonorrhoeae* la pacienţi diagnosticaţi în judeţul Suceava, în perioada 2004-2008 cu diferite forme de infecţie gonococică. Din cei 254 de pacienţi diagnosticaţi pe baza datelor clinico-epidemiologice, folosind definiţia de caz a OMS, la 60 dintre ei s-a stabilit diagnosticul prin izolarea şi identificarea tulpinilor, cu efectuarea antibiogramei, iar la 9 dintre ei, doar pe baza frotiului. Din acest punct de vedere, rata confirmărilor cu laboratorul a fost de 27,1% (69/254), iar rata de succes a izolărilor a fost de 86,95% (60/69).

Atât pentru P cât şi T, doar 15% dintre tulpini au fost sensibile, diferenţa fiind doar în ceea ce priveşte nivelul de rezistenţă pentru tulpinile IR (9 tulpini IR pentru penicilină, respectiv 3 pentru T - tab. I). Rezultate similare studiului nostru au fost publicate de mai mulţi autori, concordanţa fiind mai ales pentru P, deoarece pentru tetraciclină, în multe ţări/zone de pe glob, rezistenţa a ajuns la 100% (tab. II). Se observa o scădere a sensibilităţii la antibiotice, in special pentru P şi T (85%) comparabil cu descreşterea sensibilităţii tulpinilor raportată în Asia sau Europa de Vest (tab. II) (10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21).

Prin utilizarea sistemului de diagnostic miniAPI şi a galeriilor API-NH am evidenţiat că 31 tulpini de *N. gonorrhoeae* erau producătoare de β lactamază (51%); în alte zone de pe glob, ponderea acestor tulpini este cuprinsă între 0,5%, în Japonia (17) şi 77% în Rusia (18), similar cu studiile din zona noastră (20), care au evidenţiat că 71,6% dintre tulpinile de gonoco analizate produc β lactamază; acest fenomen a fost raportat încă din 1976 atât in SUA cât şi în UK, iar din 1989, P nu a mai fost recomandată în tratamentul infecţiilor gonococice (21). Deoarece studiul nostru evidenţiază o incidenţă de 55% pentru tulpinile de gonoc R la CIP, şi de 13,33% pentru cele IR, acest antibiotic trebuie exclus din schemele terapeutice, cel puţin pentru pacienţii din zona de NE a ţării.

TABELUL II

Rezultatele incidenţei rezistenţei *N. gonorrhoeae*, faţă de principalele antibiotice testate, comparativ cu datele din literatură

<table>
<tr><th>Referinţa bibliografică</th><th>Anul publicării/ perioada izolărilor</th><th>Ţara/ regiunea</th><th colspan="2">Penicilină % R</th><th colspan="2">Tetraciclină % R</th><th colspan="2">Ciprofloxacină % R</th><th colspan="2">Ceftriaxonă % R</th></tr>
<tr><td>16</td><td>2002</td><td>Asia</td><td colspan="2">74,3</td><td colspan="2">98,4</td><td colspan="2">63</td><td colspan="2">-</td></tr>
<tr><td>16</td><td>2002</td><td>Europa</td><td colspan="2">82</td><td colspan="2">91,3</td><td colspan="2">4,3</td><td colspan="2">-</td></tr>
<tr><td>16</td><td>2002</td><td>America</td><td colspan="2">90</td><td colspan="2">100</td><td colspan="2">7,7</td><td colspan="2">sporadic*</td></tr>
<tr><td>16</td><td>2002</td><td>Africa</td><td colspan="2">100</td><td colspan="2">91,7</td><td colspan="2">0</td><td colspan="2">13</td></tr>
<tr><td>17</td><td>2005</td><td>Japonia</td><td colspan="2">-</td><td colspan="2">-</td><td colspan="2">81,6</td><td colspan="2">30,3</td></tr>
<tr><td>18, 19</td><td>2007, 2008</td><td>Rusia</td><td colspan="2">77</td><td colspan="2">92</td><td colspan="2">50</td><td colspan="2">3</td></tr>
<tr><td>20</td><td>2007</td><td>România (NE)</td><td colspan="2">100</td><td colspan="2">92,6</td><td colspan="2">59,2</td><td colspan="2">0</td></tr>
<tr><td>21</td><td>2007</td><td>UK</td><td colspan="2">24</td><td colspan="2">60</td><td colspan="2">28</td><td colspan="2">0</td></tr>
<tr><td>**</td><td>2004-2008</td><td>România (NE)</td><td>70 R</td><td>15 IR</td><td>80 R</td><td>5 IR</td><td>55 R</td><td>13,33 IR</td><td>1,67 R</td><td>3,33 IR</td></tr>
</table>

* cazuri raportate sporadic, imposibil de redat procentual

** rezultatele se referă la studiul prezentat în acest articol şi include tulpinile R si IR

Singurul studiu publicat recent şi care analizează fenomenul de rezistenţă pentru tulpini de gonococ izolate de la pacienţi proveniţi din regiunea de NE a ţării, afirmă că 100% dintre tulpini sunt rezistente la p, 92,6%, rezistente la T, 59,2% R pentru CIP, şi nu evidenţiază nici o tulpină rezistentă la CRO. (20). De fapt, în SUA şi UK, încă din 2008 s-a făcut recomandarea, bazată pe studii din 2006, ca CIP să fie eliminată din schemele terapeutice (21). Studiul nostru aduce în prim plan, emergenţa rezistenţei gonococilor şi la CRO, cel puţin pentru pacienţi proveniţi din judeţul Suceava; deşi numărul de tulpini R şi IR la CRO este mic (1,67, respectiv 3,33%), totuşi reprezintă un semnal de alarmă şi un motiv în plus pentru extinderea studiilor privind rezistenţa *N. gonorrhoeae* şi la cefalosporinele de generaţia a 3-a, inclusiv, prin determinări cantitative, ca şi extinderea acestor studii la nivelul întregii ţări.

În alte zone pe glob, emergenţa rezistenţei la CRO, variază între semnalarea sporadică a cazurilor în SUA (16), la 3% în Rusia (19), 4,8% în Italia, 13% în Africa (16) şi chiar 30,3% în Japonia (17) (tab. II). Acest fenomen a impus includerea şi a CRO în bateria de antibiotice testate şi monitorizarea fenomenului de rezistenţă a *N. gonorrhoeae*, în vederea reconsiderării schemelor terapeutice (10,11,12,13,14).

Controlul infecţiei gonococice este complex şi dificil, impune pe lângă programe de promovare a sănătăţii, studii multidisciplinare în vederea supravegherii emergenţei fenomenului de rezistenţă la antibiotice, prin metode calitative, dar mai ales cantitative, ca suport al reconsiderării schemelor şi ghidurilor terapeutice (15).

CONCLUZII

Aceste rezultate reprezintă primul studiu privind descrierii rezistenţei tulpinilor de *N. gonorrhoeae* izolate de la pacienţi din judeţul Suceava, în perioada 2004-2008. Penicilina, tetraciclina, ciprofloxacina, claritromcina, amoxicilina şi augmentinul nu pot fi folosite în terapia antigonococică, datorită incidenţei crescute a tulpinilor rezistente. Ceftriaxona rămâne încă unul dintre antibioticele de elecţie. Pentru ajustarea noilor scheme terapeutice a infecţiilor cu *N. gonorrhoeae* este necesară extinderea studiilor de rezistenţă la antibiotice şi continuarea supravegherii active a acestei infecţii la nivel naţional.

MULŢUMIRI

Mulţumim medicilor clinicieni care au participat la selecţionarea cazurilor şi conducerii Direcţiei de Sănătate Publică Suceava pentru sprijinul acordat.

BIBLIOGRAFIE

1. Tapsall JW. Antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *Clin Infect Dis* 2005; 41 (Suppl 4): S263-268.
2. Manju B, Krishna R, Gupta SM, Sumathi M, Jain RK. Changing trends of antimicrobial susceptibility patterns of *Neisseria gonorrhoeae* in India and the emergence of ceftriaxone less susceptible *N. gonorrhoeae* strains. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60 (3): 582-586.
3. *** Centrul pentru Prevenirea şi Controlul Bolilor Transmisibile. *Raport boli transmisibile România, 2008*, 52-53. http://cpcbt.ispb.ro/document.php.
4. *** WHO. *Management of Sexually Transmitted Diseases 1997.* Geneva: WHO. Document 37. WHO/GPA/TEM94./Rev.1.
5. Buiuc D. Diagnosticul microbiologic în infecţiile tractusului uro-genital la bărbat. In: *Tratat de microbiologie clinică*. ediţia a 2$^{\text{-a}}$. Bucureşti: Ed. Didactică, 2008, 278-285.

6. Neguţ M, Levent I, Rafila A. Identificarea cocilor gram-negativi aerobi. *Tratat de microbiologie clinică*. ediţia a 2-a. Bucureşti : Ed. Didactică, 2008, 608-618.
7. *** National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Performance Standard for Antimicrobial Susceptibility Testing : Eighteenth Informational Supplement Document M2-A9 end M7-A7*. Wayne : NCCLS, 2004.
8. Tapsall JW. Monitoring antimicrobial resistance for public health action. *Commun Dis Intell* 2003 ; 27 : S70–74.
9. Tapsall JW, Limnios EA, Murphy D. Analysis of trends in antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* isolated in Australia, 1997-2006. *Sex Trans Dis* 2008 ; 61 : 150-155.
10. Roy K, Wang SA, Meltzer MI. Optimizing treatment of antimicrobial resistant *Neisseria gonorrhoeae*. *Emerg Infect Dis* 2005 ; 11 : 1265-1273.
11. Martin IMC, Hoffman S, Ison CA. European surveillance of sexually transmitted infections : the first combined antimicrobial susceptibility data for *Neisseria gonorrhoeae* in Western Europe. *J Antimicrobial Chemother* 2006 ; 58 : 587–593.
12. Workowski KA, Berman SM, Douglas JM Jr. Emerging antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* : urgent need to strengthen prevention strategies *Ann Intern Med* 2008 ; 148 : 606-613.
13. Deguchi T, Yasuda M. Lack of nationwide surveillance of antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in *Japan Ann Intern Med* 2008 ; 149 : 363-364.
14. Tapsall JW, Limnios M, Schultz T. Continuing evolution of the pattern of quinolone resistance in *Neisseria gonorrhoeae* isolated in Sydney, Australia. *Sex Trans Dis* 1998 ; 8 : 415–417.
15. Jones RJ, Gavan TL, Thornsberry C et al. Standardization of disk diffusion and agar dilution susceptibility tests for *Neisseria gonorrhoeae* : interpretative criteria and quality control guidelines for ceftriaxone, penicillin, spectinomycin, and tetracycline. *J Clin Microbiol* 1989 ; 27 : 2758-2766.
16. Berglund T, Unemo M, Lcen P et al. One Yar of *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Sweden : prevalence study of antibiotic susceptibility shows relation to the geographic area of exposure. *Int J STD&AIDS* 2002 ; 13 : 109-114.
17. Ito M, Deguchi T, Mizutani KS et al. Emergence and spread of *Neisseria gonorrhoeae* clinical isolates harboring mosaic-like structure of penicillin-binding protein 2 in Central Japan. *Antimicrob Agents Chemother* 2005 ; 49 : 137–143.
18. Kubanova A, Frigo N, Kubanov A et al. National surveillance of antimicrobial susceptibility in *Neisseria gonorrhoeae* in 2005-2006 and recommendations of first-line antimicrobial drugs for gonorrhoea treatment in Rusia. *Sex Trans Infect* 2008 ; 84 : 285-289.
19. Vorobieva V, Firsova N, Ababkova T et al. Antibiotic susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* in Arkhangelsk, Rusia. *Sex Trans Infect* 2007 ; 83 : 133-143.
20. Bădescu A, Petrescu Z, Enache A, Buiuc D. Rezistenţa la antibiotice a *Neisseria gonorrhoeae* în zona Moldovei. *Rev Med Chir Soc Med Nat* 2007 ; 111 (2) : 512-515.
21. *** Health Protection Agency. *The Gonococcal Resistance to Antibiotics Surveillance Programme*. Annual Report 2007 ; 12-19. http : //www.hpa.org.uk/web/HPAwebFile/.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

MEDICINĂ PREVENTIVĂ - LABORATOR **ARTICOLE ORIGINALE**

CONTRIBUTION TOWARDS DEVELOPING A NEW SEMI-SELECTIVE MEDIUM FOR *STREPTOCOCCUS ANGINOSUS* GROUP

Gabriela Băncescu[1], A. Băncescu[1,2], Amalia-Sofia Neagu[1], Manuela Radu-Popescu[1], Ştefania-Felicia Bărbuceanu[1]
"C. Davila" University of Medicine and Pharmacy Bucureşti
School of Dentistry
1. Department of Microbiology
2. "I. Cantacuzino" Institute Bucureşti

CONTRIBUTION TOWARDS DEVELOPING A NEW SEMI-SELECTIVE MEDIUM FOR *STREPTOCOCCUS ANGINOSUS* GROUP (Abstract) : The aim of this study was to develop a new selective medium for isolation of *Streptococcus anginosus* group (SAG) strains, by adding sulphamethazine and aztreonam as selective agents at Mitis-Salivarius agar (MSA), the medium commonly used for recovery of oral streptococci from oral samples. **Material and method** : The evaluation of Mitis-Salivarius - sulphamethazine - aztreonam agar (MSSAA) for SAG selectivity was performed by testing the growth of type strains and laboratory-stored clinical isolates of different oral streptococcal species on this medium and also by investigating the SAG recovery on MSSAA in comparison with MSA and the growth inhibition of non-SAG strains from 100 saliva and 11 pus samples (collected from healthy young subjects and from paediatric patients with upper respiratory tract infections, respectively) on MSSAA. **Results** : The same SAG recovery rate was obtained on both MSSAA and MSA, while non-SAG strains failed to grow on the novel medium, except for enterococci. The results of the present study have indicated that MSSAA is a suitable medium for selecting SAG isolates from clinical specimens. **Key words** : *ANGINOSUS* GROUP STREPTOCOCCI, BACTERIAL ISOLATION, SELECTIVE MEDIA

Oral streptococci belong to the normal flora of the oral cavity and upper respiratory tract, urogenital tract and gastrointestinal tract (1). However, as a result of spreading out of their normal habitat, the viridans streptococci are involved in the aetiopathogeny of endocarditis and other serious infections, especially in immunocompromised patients. Among the oral streptococci, the three species belonging to the *S. anginosus* group (SAG), formerly known as *S. milleri* group : *S. anginosus*, *S. constellatus* and *S. intermedius* (2), represent the main facultatively anaerobic microorganisms isolated from oral and maxillofacial infections, like : abscesses in the oro-maxillofacial region, sinusitis, sialadenitis, maxillary osteomyelitis etc. These microorganisms are also involved in the aetiopathogenesis of nonoral pyogenic diseases as : deep-seated abscesses, central nervous system infections, ear-nose-throat infections, pleuropulmonary infections, abdominal infections, osteomyelitis, septic arthritis etc. Due to their important role in human pathology, the SAG species deserve special attention by microbiologists and clinicians. In order to improve the microbiological investigation in case of infections in which these bacteria are involved, the aim of this study was to develop a new selective medium for SAG recovery.

MATERIALS AND METHOD

Culture media

The recovery of SAG on a new selective medium was compared to the recovery on Mitis-Salivarius agar (MSA) (MS, Difco, Detroit, USA), supplemented with 0.001% potassium tellurite. The novel medium: Mitis-Salivarius - sulphamethazine - aztreonam agar (MSSAA) proposed by the authors of the present study and prepared at the laboratory of the Microbiology Department, Faculty of Dentistry, University of Medicine and Pharmacy "Carol Davila", Bucharest, was represented by MSA supplemented (in addition to 0.001% potassium tellurite) with fresh solutions of sulphamethazine [4-amino-*N*-[4,6-dimethyl-2-pyrimidinyl]-benzenesulphonamide] (Sigma) and aztreonam [2S-[2α,3β(Z)]]-2-[[[1-(2-Amino-4-thiazolyl)-2-[(2-methyl-4-oxo-1-sulfo-3-azetidinyl)amino]-2-oxoethylidene]amino] oxy] -2-methylpropanoic acid (Sigma) in final concentrations of 1 and 0.2 g/L, respectively. These concentrations were previously established based on the minimum inhibitory concentrations values of these antimicrobial agents obtained against type strains and laboratory-stored clinical isolates of oral streptococci by broth microdilution method (data not published).

The non-selective Columbia agar with 5% sheep blood (CBA) was used as a control for growth and selectivity investigation in this study.

Investigation of MSSAA selectivity

The selectivity of MSSAA for SAG was tested on type strains and laboratory-stored clinical isolates belonging to different oral streptococci species. In addition, the rate of SAG recovery from clinical specimens on MSSAA was investigated by comparison with that obtained on MSA. The following type strains were used: *S. anginosus* NCTC 10713, *S. mutans* ATCC 25175, *S. salivarius* ATCC 13419, *S. mitis* ATCC 6249, *S. sanguinis* ATCC 10556, *S. parasanguinis* ATCC 15909, *S. vestibularis* ATCC 49124, *S. constellatus* LMG 14507 (BCCM^{TM}/LMG, Ghent University), *S. intermedius* LMG 17840 (BCCM^{TM}/LMG, Ghent University) and *S. oralis* LMG 14532 (BCCM^{TM}/LMG, Ghent University). A number of 53 clinical isolates stocked at the laboratory of the Microbiology Department, School of Dentistry, "C. Davila" University of Medicine and Pharmacy Bucureşti, were also tested. Those isolates were previously identified as belonging to the following species: *S. anginosus* (10 strains), *S. constellatus* (5 strains), *S. intermedius* (1 strain), *S. mutans* (10 strains), *S. oralis* (10 strains), *S. mitis* (10 strains), *S. sanguinis* (5 strains), *S. parasanguinis* (1 strain) and *S. gordonii* (1 strain). Aliquots of 10 μL of the tested strains inocula adjusted at 10^3 and 10^5 CFU/mL were spread by loop onto the surface of CBA, MSA and MSSAA. The bacterial growth was investigated after 48h of incubation at 37^0C in an atmosphere of 5% CO_2.

The selectivity of MSSAA was tested also on clinical specimens and the SAG recovery rate and ability of inhibition of other microorganisms on this medium were compared to those on MSA. The specimens comprised 100 unstimulated saliva samples from healthy dental students aged 20 to 31 years, from "C. Davila University of Medicine and Pharmacy, and 11 pus samples from children aged 2 to 13 years, with upper respiratory tract infections, at the Ear-Nose-Throat Clinic from "St. Mary" Hospital, Bucureşti.

The 100 student volunteers denied any recent antimicrobial treatment at the time of sampling and gave their written informed consent before entering into the study. The samples (1-2 mL) were collected in sterile plastic tubes, homogenized by vortex-mixing and diluted 1/100 in thioglycollate broth. Aliquots of 10 μL of the diluted saliva were spread by a calibrated loop onto the surface of: CBA, MSA and MSSAA, which were incubated in an atmosphere of 5% CO_2 at 37^0C for 48h.

The pus specimens were collected by needle aspiration from: 4 paediatric patients with acute rhinosinusitis, 3 patients with acute otitis media, 1 patient with furuncle of nasal vestibule and 1 patient with tonsillar phlegmone, and by swabbing the purulent material from the tonsillar crypts in case of 2 patients with acute tonsillitis. The samples were seeded on: CBA, MSA and MSSAA with incubation in an atmosphere of 5% CO_2 at 37^0C for 48h. The parents declared no antibiotic administration to their children for at least one month prior to sampling and gave their written informed consent for enrolment them into the study.

All colony types obtained from saliva and pus primary cultures were subcultivated on CBA and incubated in an atmosphere of 5% CO_2 at 37^0C for 24h. All isolated strains were identified at genus or species level using conventional diagnosis methods and/or appropriate API identification galleries (BioMérieux, France). All the strains isolated from MSA and MSSAA and also those isolated from CBA which were identified by conventional biochemical tests as belonging to the *anginosus* group were speciated by the Rapid ID 32 STREP system (BioMérieux, France).

RESULTS

As expected, both type strains and laboratory-stored isolates of oral streptococci grew well on CBA and MSA, but only the SAG strains were able to grow on MSSAA, in the same: scanty, moderate or heavy growth as detected on MSA.

The rate of SAG recovery from saliva specimens on the selective media was 23% and on the non-selective medium - 19%. Of the total of 24 SAG isolates from saliva, 21 strains were identified as *S. anginosus*, 2 strains as *S. constellatus* and only one as *S. intermedius* (table I). All SAG strains recovered on CBA and MSA grew also on the novel medium, while the only 4 SAG strains noticed in scanty growth on both selective media (3 isolates of *S. anginosus* and one isolate of *S. constellatus*) failed to be detected on CBA, due to the heavy growth of other species. In one saliva sample, a pair of *S. anginosus* strains was isolated, comprising an alpha-haemolytic strain recovered only from the selective media and a beta-haemolytic one showing heavy growth on all 3 media.

Except for 7 enterococcal strains recovered from all 3 media in moderate growth, other non-SAG species isolated from MSA and/or CBA, as: *S. mitis, S. oralis, S. sanguinis, S. parasanguinis, S. salivarius, S. vestibularis, S. mutans, Gemella* spp., *Granulicatella adiacens* (detected on CBA in satellite growth, around some colonies of *S. aureus*), staphylococci, micrococci, coryneform bacteria and *Enterobacter cloacae* grew not on MSSAA.

Only one of the 11 samples collected from the paediatric patients was positive for SAG and originated from a purulent tonsillitis case. The SAG strain was recovered from all 3 media in heavy growth and was identified as *S. constellatus*. The *S. epidermidis* strain isolated from the same sample on CBA in poor growth has not developed colonies on MSA and MSSAA. The non-SAG strains isolated on CBA from the other 10 pus samples belonged to the following species: *S. aureus, S. epidermidis, S. pneumoniae* and *S. mitis* and were not able to grow on MSSAA.

DISCUSSION

Due to the special role played by SAG in human infectious pathology, the use of a proper selective medium for these streptococci is of high importance for optimizing the laboratory diagnosis in infections pro-

TABLE I

Semicantitative evaluation of the growth of the *anginosus* group strains recovered from saliva samples on Mitis-Salivarius agar and Mitis-Salivarius - sulphamethazine - aztreonam agar

Sample number	Species	Growth on:	
		Mitis-Salivarius agar	Mitis-Salivarius - sulphamethazine - aztreonam agar
1	*S. anginosus*	+[a]	+
2	*S. anginosus*	+	+
3	*S. anginosus*	+	+
4	*S. anginosus*	+	+
5	*S. anginosus*	+	+
6	*S. anginosus*	+	+
7	*S. anginosus*	+	+
8	*S. anginosus*	+	+
9	*S. anginosus*	+	+
10	*S. anginosus*	+	+
11	*S. anginosus*	++[b]	++
12	*S. anginosus*	++	++
13	*S. anginosus*	++	++
14	*S. anginosus*	++	++
15	*S. anginosus*	++	++
16	*S. anginosus*	++	++
17	*S. anginosus*	++	++
18	*S. anginosus*	±[c]	±
19	*S. anginosus*	±	±
20	*S. anginosus*: - 1 alpha-haemolytic strain	±	±
	- 1 beta-haemolytic strain	++	++
21	*S. constellatus*	++	++
22	*S. constellatus*	±	±
23	*S. intermedius*	+	+

[a] +, moderate growth (10-25 colonies); [b] ++, heavy growth (>25 colonies),
[c] ±, poor growth (1-2 colonies)

duced by these bacteria. Whiley et al. recommended the nalidixic acid - sulphamethazine agar (NAS) as an efficient SAG semiselective medium, which provides the recovery of SAG at rates comparable to those obtained on CBA, but they reported that this medium allows the growth of some streptococcal strains belonging to *S. mutans* group too (2,3).

Previous observations made by the first two authors of the present article regarding the constant lack of any inhibition zone around both sulfisoxazole (250 µg) and aztreonam (30 µg) sensitivity-discs in case of *S. anginosus* isolates, in contrast to other oral streptococcal species (no data given herein), stood for developing of a new SAG selective medium : MSSAA, respectively, by adding a sulphonamide and a monobactam antibiotic to MSA. MSA is the currently used selective-differential medium for oral streptococci, on which some species are able to develop characteristic colony morphology. The crystal violet included in MSA formula inhibits the staphylococci, while aztreonam, which is known to be active only against Gram-negative bacteria, will inhibit the growth of most Gram-negative aerobic species.

The saliva was chosen for investigating the SAG recovery in this study because this biological fluid reflects the overall oral microflora, in which the viridans streptococci are the predominant species (4). Healthy young adults were preferred as volunteer subjects in providing saliva samples as SAG species have been rarely detected in saliva in infants and children comparing to other viridans streptococci as : *S. mitis*, *S. salivarius*, *S. oralis* and *S. sanguinis* (4,5). Bacterial detection by molecular techniques has indicated *S. mitis* as the predominant oral streptococcal species in infant saliva with levels decreasing with age, whereas the opposite situation was noticed in case of *S. anginosus* (6). Whiley et al. reported *S. anginosus* as the most frequently isolated SAG species from : saliva, supragingival plaque and mouthrinses in adults (3). There are several recent studies focused on oral streptococci prevalence in human oral fluids and distribution of selected bacterial species on oral surfaces. For example, using the checkerboard DNA-DNA hybridization, *S. anginosus* was more frequently detected in saliva than in subgingival plaque (7), while other findings indicated that both *S. anginosus* and *S. intermedius* are colonizing saliva and soft oral tissues in the same proportion as the dental surfaces, in contrast to *S. constellatus* found in higher amount in saliva and on oral mucosa (8).

As SAG species are frequently involved in oral and non-oral pyogenic infections, in the present work, the selectivity of MSSAA for SAG was tested also in patients with different upper respiratory tract infections. The results indicated the same rate of SAG recovery on both MSSAA and MSA, but it is necessary to extend this investigation on more clinical samples.

However, the few enterococcal strains grown on MSSAA indicated that this medium is not strictly selective for SAG, but a semi-selective one.

CONCLUSIONS

The novel medium mentioned in this study presented the same SAG recovery rate as that obtained on MSA. MSSAA proved to be a proper semi-selective medium for SAG which can be used for isolation of these bacteria from plurimicrobial clinical samples.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the project ID_2652 no. 1136/12.01.2009 from the Exploratory Research Projects of the National University Research Council (NURC) and the Executive Agency for Higher Education and Research Funding (EAHERF), Romania.

REFERENCES

1. Marsh PD, Martin MV. *Oral Microbiology*. 5th ed. Edinburgh, London : Churchill Livingstone Elsevier, 2009.
2. Hardie JM, Whiley RA. The genus Streptococcus oral. In : Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E editors. *The Prokaryotes*. Vol. 4. 3rd ed. New York : Springer Sciences+Business-Media, LLC, 2004, 76-107.
3. Whiley RA, Freemantle L, Beighton D, Radford JR, Hardie JM, Tillotsen G. Isolation, identification and prevalence of *Streptococcus anginosus*, *S. intermedius* and *S. constellatus* from the human mouth. *Microb Ecol Health Dis* 1993 ; 6 : 285-291.
4. Könönen E, Jousimies-Somer H, Bryk A, Kilpi T, Kilian M. Establishment of streptococci in the upper respiratory tract : longitudinal changes in the mouth and nasopharynx up to 2 years of age. *J Med Microbiol* 2002 ; 51 : 723-730.

5. Salako NO, Rotimi V, Philip L, Haidar HA, Hamdan HM. The prevalence and antibiotic sensitivity of oral *Viridans streptococci* in healthy children and children with disabilities in Kuwait. *Spec Care Dentist* 2007 ; 27 : 67-72.
6. Morita E, Narikiyo M, Nishimura E et al. Molecular analysis if age-related changes of *Streptococcus anginosus* group and *Streptococcus mitis* in saliva. *Oral Microbiol Immunol* 2004 ; 19 : 386-389.
7. Darout IA, Albandar JM, Skaug N. Correlations between bacterial levels in autologous subgingival plaque and saliva of adult Sudanese. *Clin Oral Invest* 2002 ; 6 : 210-216.
8. Mager DL, Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Distribution of selected bacterial species on intraoral surfaces. *J Clin Periodontol* 2003 ; 30 : 644-654.

NOUTĂŢI

DIZABILITĂŢILE COPILULUI - O PROBLEMĂ DE SĂNĂTATE ACTUALĂ LA NIVEL GLOBAL

Dizabilităţile copilului reprezintă în momentul de faţă o problemă de sănătate la nivel global. În consecinţă, pentru a culege date şi informaţii comparabile despre situaţia copiilor cu dizabilităţi, *Fondul pentru Copii al Naţiunilor Unite* (UNICEF) a recomandat ţărilor membre să includă zece întrebări în programul de monitorizare *Multiple Indicator Cluster Survey* (MICS). În acest fel au fost examinate, printr-o procedură de screening, dizabilităţile copiilor în asociere cu alimentaţia şi cu abilităţile lor de învăţare precoce, în ţări cu venituri mici şi medii. Studiul transversal a inclus 191.199 de copii, care au fost depistaţi la testul de screening ca fiind cu dizabilităţi sau care pot dezvolta dizabilităţi. Vârstele copiilor din cele 18 ţări participante la acest program între anii 2005 şi 2006, au fost cuprinse între 2 şi 9 ani. Rezultatele screening-ului au fost analizate descriptiv în raport de variabilele socio-demografice, nutriţionale, de şcolarizare şi de învăţare precoce. Astfel au fost realizate analize pentru fiecare ţară participantă şi au fost testate diferenţele pentru a evidenţia situaţiile semnificative. Un procent de 23% dintre copiii cu vârste cuprinse între 2-9 ani au fost declaraţi cu dizabilităţi. Dintre aceştia, la copiii cu vârste cuprinse între 2-4 ani, testul a identificat în 8 din cele 18 ţări incluse în studiu, semnificativ mai mulţi copii cu dizabilităţi între cei care nu beneficiau de micul dejun comparativ cu cei care luau micul dejun (mediana 36% [9-56] *vs.* 26% [4-51]) ; în 5 din doar 10 ţări monitorizate sunt semnificativ mai mulţi copii cu dizabilităţi între cei care nu iau suplimente de vitamina A (36% [7-53] *vs.* 29% [4-50]) ; sunt semnificativ mai mulţi copii cu dizabilităţi între copiii cu tulburări de creştere (26% [6-54]) *vs.* 25% [3-42]) în 5 din 15 ţări monitorizate pentru acest aspect ; respectiv între copiii subponderali (36% [3-61] *vs.* 26% [4-43]) în 7 din 15 ţări monitorizate pentru acest aspect. Referitor la învăţarea precoce, sunt semnificativ mai mulţi copii cu dizabilităţi între cei care nu sunt incluşi în acest proces, comparativ cu cei selectaţi (31% [7-54] *vs.* 24% [4-51]), în 8 din cele 18 ţări. Între copiii cu vârste cuprinse între 6-9 ani, din 8 ţări, care nu erau şcolarizaţi au fost identificaţi semnificativ mai mulţi copii cu dizabilităţi decât între cei care mergeau la şcoală (29% [2-83] *vs.* 22% [3-47]). Rezultatele obţinute atrag atenţia asupra necesităţii ameliorării la nivel global a capacităţii de a evalua copiii expuşi riscului de a avea dizabilităţi şi de a le furniza acestora o asistenţă adecvată. Cercetări suplimentare sunt necesare în ţările cu venituri mici şi medii, pentru a înţelege rolul deficienţelor nutriţionale şi al accesului limitat la şcolarizare, ambele aspecte fiind atât posibile antecedente ale dizabilităţilor copiilor cât şi consecinţe ale fenomenului de discriminare (Gottlieb CA, Maenner MJ, Claudia Cappa C, Durkin MS. Child disability screening, nutrition, and early learning in 18 countries with low and middle incomes : data from the third round of UNICEF's Multiple Indicator Cluster Survey (2005-2006). *Lancet* 2009 ; 374 (9704) : 1831-1839).

F.D. Petrariu

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

MEDICINĂ DENTARĂ **ACTUALITĂŢI**

ACTUALITĂŢI PRIVIND IMPLICAREA MICROBIANĂ ÎN ABCESELE PERIORALE

C. Babiceanu[1,2], Maria Voroneanu[2]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină Dentară
1. Departamentul de chirurgie orală şi maxilo-facială
2. Cabinet Medical Dent-Rex Bacău

MICROBIAL INVOLVEMENT IN PERIORAL ABSCESSES UPDATE (Abstract) : Perioral abscesses are common manifestations of acute oral infections and microbiological studies has shown that they are polymicrobial infections, most often with the involvement of 3.5 different bacterial species. Microbial virulence, biocoenosis of oral cavity is elements which contribute to the emergence of oral infections. Although it may seem outside interest of dentist or oral surgeon updating related microbiological pathogens identified in perioral abscess, a brief and modest information about the profile of the pathogens involved is particularly beneficial and useful. The fact that this "explosive army" is not in sight, this not mean that it doesn't exist, so we believe that the holding of general notions of microbiological culture is necessary for prevention and treatment measures. **Key words** : PERiMAXILLARY ABSCESS, ORAL BACTERIA, INFECTIVE ENDOCARDITIS

Ţesuturile moi perimaxilare sunt deseori sediul unor procese infectioase care îmbracă aspecte variate, în funcţie de forma anatomopatologică, localizare, virulenţa germenilor cauzali şi de rezistenţa la agresiunile microbiene ale organismului. Infecţiile perimaxilare se întâlnesc la orice vârstă, fiind mai frecvente în perioada în care sistemul dentoparodontal este mai afectat, în funcţie bineînţeles şi de capacitatea de apărare imunologică a organismului.

Varietatea enormă a microorganismelor din flora orală fundamentală, creşterea gradului de agresivitate prin care o bacterie saprofită devine deodată patogenă, localizări la distanţă ale metastazelor septice şi mai ales implicarea directă a microorganismelor orale în producerea endocarditei bacteriene infecţioase sunt argumente serioase pentru cercetarea ştiinţifică .

Abcesele periapicale sunt manifestări frecvente ale infecţiilor orale acute iar studiile microbiologice efectuate au demonstrat că ele sunt infecţii polimicrobiene, cel mai adesea cu implicarea a 3-5 specii bacteriene diferite. Virulenţa microbiană, terenul, biocenoza cavităţii orale sunt elemente care concură la apariţia infecţiilor din cavitatea orală, infecţii de cele mai multe ori de origine odontogenă.

Microorganismele asociate infecţiilor odontogene sunt numeroase şi în general ele provin din flora indigenă orală. Studii recente sugerează relaţia cauzală între anumite specii de microorganisme şi entităţi nosologice manifeste la nivelul ţesuturilor orale (1,2). Dificultatea precizării acestor relaţii rezidă din complexitatea etiologiei infecţiilor, majoritatea polimicrobiene. O altă dificultate constă şi din constatarea că nu toţi microbii din situsul infecţios au potenţial patogen egal sau ca cel mai numeros să fie "microbul patogen cheie".

Numeroşi autori s-au preocupat de studiul florei microbiene din infecţiile endodontice şi periapicale (3,4,5).

Într-o cercetare întreprinsă pe 22 molari temporari şi un molar permanent la 23 de pacienţi cu pulpite parţiale, s-au găsit în ţesutul pulpar afectat următorii germeni microbieni: streptococ alfa-hemolitic, streptococ beta-hemolitic, *Stafilococcus aureus*, bacili difteroizi, pneumococ, *Neisseria sp.*, lactobacill acidofil (6).

Într-un studiu asupra florei microbiene după un tratament mecanic radicular minuţios pe 563 de cazuri, s-a constatat că 430 cazuri (76,4%) au prezentat o cultură microbiană pozitivă iar la 48 cazuri (8,5%) a identificat mai multe culturi pozitive (5).

Este foarte interesant de remarcat că dinţii vitali cu leziuni carioase au un număr semnificativ mai mare de culturi bacteriene pozitive faţă de dinţii devitali. Această constatare se explică prin faptul că la dintele devital pulpa dentară este necrozată complet iar bacteriile au avut timp suficient să invadeze canaliculii dentinari, într-o măsură mult mai mare decât în cazul pulpei vitale parţial afectate (7).

În alte cercetări s-a precizat, de asemenea, că molarii superiori mai ales, dar şi cei inferiori, au un procent superior de culturi microbiene pozitive, comparativ cu dinţii incisivi, canini şi premolari. Explicaţia pentru această situaţie microbiologică se referă la existenţa anatomică a mai multor canale radiculare la dinţii posteriori şi în consecinţă a mai multor posibilităţi pentru colonizarea şi multiplicarea bacteriilor. Din punct de vedere a varietăţii florei microbiene, dinţii vitali au un procent mai ridicat de stafilococi şi enterococi decât dinţii devitali, iar proporţia de streptococi alfa-hemolitici (*Streptococcus viridans*) este semnificativ mai mică la dinţii vitali (8).

Cercetări de microbiologie orală axate pe identificarea tulpinilor bacteriene din canalele radiculare infectate au evidenţiat că 77% din grupa dinţilor vitali şi 83% din grupa dinţilor devitali sunt reprezentate de streptococi şi stafilococi (9).

S-au izolat din canalele radiculare infectate germeni anaerobi, anaerobi facultativi sau aerobi şi o floră mixtă. Printre anaerobi au identificat *Veillonella parvula*, *Neisseria discoides*, *Streptococcus fetidis*, *Bacilus ramosus*, *Bacilus fragilis*, bacili fusiformi, spirochete iar printre cei anaerobi facultativi streptococi, stafilococi, enterococi, bacilul lactic (10).

Examenul microbiologic al ţesutului pulpar necrozat sau infectat nu este un examen de rutină. În general el se efectuează în cadrul studiilor de cercetare a etiopatogeniei pulpitelor. Examenul microbiologic se utilizează mai mult în controlul microbiologic al canalelor radiculare, ca parte a terapiei endodontice.

Bacteriile anaerobe au fost incriminate ca element principal în producerea pulpitelor, dar s-au mai izolat şi bacterii facultativ anaerobe din infecţiile canalelor radiculare. Anaerobii au fost izolaţi din infecţii mixte în 97% din cazuri, iar în 40% au fost izolaţi în exclusivitate (5,6).

Abcesele periapicale sunt manifestări frecvente ale infecţiilor orale acute iar studiile microbiologice efectuate au demonstrat că ele sunt infecţii polimicrobiene, cel mai desea cu implicarea a 3-5 specii bacteriene diferite (7,8). Bacteriile izolate din abcesele periapicale sunt în general din microbiota indigenă a cavităţii orale. Studii microbiologice recente au arătat că formele severe ale abceselor periapicale sunt determinate mai frecvent de *Porphyromonas endodontalis* şi *Porphyromonas gingivalis*, în timp ce din formele benigne au fost izolate preponderent *Prevotella oralis* şi *Prevotella intermedia* (6,7,11).

Flora microbiană fundamentală a cavităţii orale variază ca şi componenţă şi densitate de la o persoană la alta, în funcţie de regimul alimentar, debitul şi pH-ul salivar, igiena orală, prezenţa sau absenţa plăcii dentare.

O dietă săracă în hidrocarbonate, absenţa cariilor, o bună igienă orală sunt asociate cu un număr redus de microbi, după cum la aceeaşi persoană numărul microbilor este mai mic ziua decât noaptea. Acest fapt se datoreşte probabil eliminării mai intense a salivei ziua decât noaptea, acţiunii abrazive a mestecatului, periajului dentar, clătirii gurii etc.

Virulenţa microbiană, terenul, biocenoza cavităţii orale sunt elemente care concură la apariţia infecţiilor din cavitatea orală, infecţii de cele mai multe ori de origine odontogenă (12).

Microorganismele asociate infecţiilor odontogene sunt numeroase şi în general ele provin din flora indigenă orală. Studiile efectuate sugerează relaţia cauzală între anumite specii de microorganisme şi entităţi nosologice manifeste la nivelul ţesuturilor orale. Dificultatea precizării acestor relaţii rezidă din complexitatea etiologiei infecţiilor, majoritatea polimicrobiene. O altă dificultate constă şi din constatarea că nu toţi microbii din situsul infecţios au potenţial patogen egal sau ca cel mai numeros să fie "microbul patogen cheie" (3).

În acest sens considerăm că dacă exemplificăm cele expuse anterior prin prezenţa *Streptococcus mutans* în leziunile carioase, deşi placa dentară a dintelui sănătos poate să nu conţină acest microorganism, aducem un modest argument pentru susţinerea teoriei enunţate .

Pe de altă parte, alţi autori susţin că flora microbiană a parodonţiului normal este dominată de *Streptococcus sanguis* şi *Actinomycete*, în timp ce bolile parodontale domină cert bacilii gram-negativi strict anaerobi din genurile *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Bacteroides* (7,13).

Bacteriile izolate din abcesele dento-alveolare fac parte, în marea lor majoritate, din microbiota indigenă a cavităţii orale. Ele provin fie din pulpa dentară necrozată, prin foramenul apical, fie din pungi parodontale profunde, prin obturare sau traumatizare accidentală (7,14).

Rolul major în producerea infecţiei îl au bacilii gram-negativi deoarece:

- au endotoxină;
- sunt bacterii capsulate ce pot determina fagocitoza;
- eliberează în mediu enzime precum colagenaze, hialuronidază, fibrinolizină, cu ajutorul cărora distrug ţesutul conjunctiv;
- posedă antigene capabile să inducă răspuns imun umoral şi celular.

Abcesele periapicale pot fistuliza spontan, fie la mucoasa orală, fie la tegumentele feţei. În alte situaţii, microorganismele pot migra din abces de-a lungul planurilor musculare şi fasciale, producând infecţii severe ale ţesuturilor moi orale şi periorale (e.g. angina Ludwig). Bacteriile pot migra în profunzime, spre osul maxilar, determinând osteite. Prin lezarea vaselor de sânge din focar este posibilă diseminarea hematogenă a microbilor, cu producerea de bacteriemii şi septicemii.

Aspectul clinic al leziunii este mai mult decât sugestiv pentru diagnostic. Precizarea etiologiei unui abces dento-alveolar este posibilă şi recomandată. Prelevarea puroiului este făcută prin aspiraţie cu ac şi seringă sterile, după antiseptizarea regiunii cu alcool etilic sau alcool izopropilic 50%. Deoarece principalele bacterii implicate sunt anaerobe, este recomandat sistemul "seringă anaerobă". Alternativ, produsul poate fi descărcat imediat după prelevare într-un mediu de transport reducător (11).

În laborator, prelevatul este omogenizat şi însămânţat pe trei tipuri de medii agarizate: medii îmbogăţite pentru incubare aerobă, medii îmbogăţite pentru bacterii anaerobe şi medii selective pentru bacilii gram-negativi anaerobi. Plăcile incubate aerob sunt citite după 2-3 zile, dar cele incubate anaerob sunt urmărite zilnic timp de 7 zile. Din coloniile izolate sunt practicate teste biochimice de identificare şi antibiograma.

În cazul abceselor dentare bine individualizate, neânsoţite de manifestări generale, drenajul chirurgical este suficient. În infecţiile mai severe, însă, terapia antimicrobiană este indispensabilă ca adjuvant al tratamentului stomatologic (1,10).

Antibioticele de elecţie sunt penicilina sau amoxicilina, în asociaţie cu metronidazolul. În caz de eşec terapeutic, trebuie suspectată implicarea bacteriilor producătoare de beta-lactamaze şi este recomandată utilizarea asociaţiei amoxicilină - acid clavulanic. La pacienţii alergici la peniciline sunt recomandate: eritromicina, rovamicina, clindamicina sau tetracicline.

Deşi accesibil, diagnosticul microbiologic al infecţiilor periapicale nu este efectuat curent deoarece:

- mediile de cultură şi sistemele de identificare a anaerobilor sunt scumpe, conducând la o relaţie cost-beneficiu negativă;
- principalii agenţi etiologici - *Prevotella* şi *Porphyromonas*, cultivă lent, astfel că rezultatele sunt obţinute după 2-3 săptămâni, când nu mai pot fi utile pacientului investigat.

Deşi poate părea în afara interesului medicului stomatolog sau chirurg oral actualizarea datelor microbiologice legate de agenţii patogeni identificaţi în prelevatele purulente din cazurile de abcese perimaxilare, credem că o scurtă şi modestă informare despre cunoaşterea profilului particular al patogenilor implicaţi este benefică şi utilă. Studiul implicării microbienie în etiopatogenia abceselor perimaxilare nu reprezintă decât "vârful icebergului" deoarece gravitatea sepsisului consecutiv rezidă de fapt în mobilizarea şi antrenarea microorganismelor orale, unele deosebit de virulente, din grupul anaerobilor nesporulaţi sau din grupul Hacek, care pot determina localizări infecţioase grave la distanţă .

Bacteriile condiţionat patogene, componente ale microbiocenozei orale odată pătrunse în circulaţia sanguină prin agresiunea chirurgicală, aderă şi colonizează în circumstanţe favorizante pe endoteliul valvular cardiac la pacienţi cu afecţiuni cardiace congenitale sau câştigate sau chiar la persoane tinere cu sau fără tare organice preexistente, ceea ce poate determina instalarea unei endocardite bacteriene subacute, infecţie severă de temut.

BIBLIOGRAFIE

1. Öethinger M. Spezielle bacteriologie. In: *Kurzlehrbuch Mikrobiologie und Immunologie*. München, Jena: Urban & Fischer Verlag, 2000, 33-95.
2. Wiley RA, Radie JM. Alpha haemolytic and non haemolytic streptococci. In: Emmerson AM editor. *Principles and Practice of Clinical Bacteriology*. Chichester: John Wiley and Sons, 2002, 3-35.
3. Buiuc D, Neguţ M. *Tratat de microbiologie clinică*. Bucureşti: Ed. Medicală, 1999.
4. Burlibaşa C. Supuraţiile perimaxilare în practica stomatologică. *Stomatologia* 1989; 1: 53-59.
5. Cruickshank R, Dugui DJ. The role of the laboratory in the diagnosis and control of infection. In: Cruickshank R, Dugui DJ editors. *Medical Microbiology*. 12th ed. vol. II. Edinburg, London, New York: Ed. Churchill Livingstone, 1995, 103-109,
6. Chow AW, Roser SM, Brady FA. Orofacial odontogenic infections. *Ann Intern Med* 2000: 88: 392-396.
7. Dumitriu HT. *Parodontologie*. Bucureşti: Ed. Viaţa Medicală Românească, 1997.
8. Iancu LS. Infectiile cu stafilococi. In: Ivan A editor. *Tratat de epidemiologie a bolilor transmisibile*. Iaşi: Ed. Polirom, 2002.
9. Wilson TG, Kornman KS. *Fundamentals of Periodontics*. Chicago, Boston: Quintessence Publishing Comp., 2002.
10. Williams BL, McCann GF. Bacteriology of dental abscesses of endodontic origin. *J Clin Microbiol* 2001; 48: 770-774.
11. Burlibaşa C. *Chirurgie orală şi maxilo-facială*. Bucureşti: Ed. Medicală, 2000.
12. Buiuc D, Bosnea D, Stadoleanu C. *Microbiologie orală*. Iaşi: Ed. Apollonia, 1999.
13. Lick R. Biologie der Infectionen. In: *Infektionen Sbeikämphung in der Chirurgie*. Stuttgart, New York: Ed. F.K. Schattauer Verlag, 1999, 34-35.
14. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS. *Medical Microbiology*. 4th ed. St. Louis, London, Sydney, Toronto: C.V. Mosby Comp., 2002.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

MEDICINĂ DENTARĂ

ARTICOLE ORIGINALE

RELAŢIA DINTRE AXUL MOLARULUI PRIM PERMANENT MANDIBULAR ŞI PIERDEREA PREMATURĂ A MOLARILOR TEMPORARI

Ana Petcu[1], A. Maxim[1], Danisia Haba [2]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină Dentară
1. Disciplina de Pedodonţie
2. Disciplina de Radiologie Stomatologică

THE RELATION BETWEEN THE LOWER FIRST PERMANENT MOLAR AXIS AND PREMATURE LOSS OF TEMPORARY MOLARS (Abstract): The aim of our study was to determine the impact of premature loss of temporary molars upon the longitudinal axis of the first permanent molar. **Material and method**: The study sample was formed by 94 orthopanthomografies of child patients with premature loss of lower temporary molars (first or second) after clinical eruption of the first permanent molar. All panoramic radiographs have been realized with the same panoramic unit with 1.4% magnification coefficient and were analyzed using a standardized technique of tracing the images of teeth and bone on matte acetate paper. It was evaluated the angle between longitudinal axis of first permanent lower molar and occlusal plane. **Results**: It was observed that premature loss of lower second deciduous molar modifies greater the vertical axis of first permanent molar (between 61° and 79°) then premature loss of first lower primary molar. This is perhaps because the loss of space in the case of premature exfoliation of first primary molar is due more to distal drift of canine then mesial drift of molars. **Conclusion**: The drift to mesial of first permanent molar is more accentuated proportional with the age at which appeared premature loss and so it is loss of leeway space. **Key words**: PREMATURE LOSS, TEMPORARY MOLAR, FIRST PERMANENT MOLAR

Pierderea prematură a dinţilor deciduali a fost descrisă încă din anii 1880 de Davenport şi Hutchinson, care au definit-o ca fiind exfolierea dinţilor deciduali de pe arcadă cu mai mult de un an de zile înainte de perioada normală de erupţie a dinţilor permanenţi. Consecinţele pierderii premature a dinţilor temporari, şi în special a molarilor temporari care asigură leeway space-ul, sunt ample la nivelul sistemului stomatognat nu numai ca urmare a pierderii funcţiei cât faptului că apar migrări dentare importante, în funcţie de dintele pierdut şi vârsta la care apare această pierdere (1). Orice dinte este menţinut în poziţia sa corectă în cadrul arcadei dentare ca rezultat al acţiunii unei serii de forţe. Dacă una din aceste forţe este modificată sau îndepărtată, vor apărea modificări în relaţia dinţilor adiacenţi şi antagonişti şi se vor dezvolta probleme de spaţiu. Pierderea prematură a molarilor temporari a fost asociată cu reducerea lungimii arcadei dentare, cu migrarea dinţilor limitrofi şi antagonişti, spaţiul disponibil pentru erupţia dinţilor definitivi fiind redus, apărând astfel rotaţiile dentare, înghesuirile dento-alveolare în dentaţia permanentă şi incluziile dentare (2). Aceste efecte sunt şi mai mari în momentul în care se pierde al doilea molar temporar, deoarece acesta serveşte drept ghid pentru erupţia molarului prim permanent (3). Din această cauză este importantă determinarea gravităţii problemelor apărute şi mai ales dacă acestea se suprapun cu alte dizarmonii dento-maxilare, pentru a putea institui un tratament corect (4).

Ortopantomografia reprezintă un examen radiologic obligatoriu la un astfel de pacient. Pe lângă datele globale pe care le oferă această explorare, ea poate permite cuantificarea gradului de înclinare a molarului prim permanent în contextul pierderii premature a molarilor temporari.

Scopul studiului a fost de a compara efectul pierderii premature a molarului prim şi a celui secund temporar mandibular asupra axului longitudinal al molarului prim permanent.

MATERIAL ŞI METODĂ

Cazuistica a fost selectată dintre pacienţii proveniţi din asistenţa la cerere din cadrul Clinicii de Stomatologie Pediatrică Iaşi. Criteriile de includere în studiu au fost: pacienţi cu vârsta civilă cuprinsă între 6 şi 10 ani şi care prezintă pierdere prematură a unui molar temporar inferior. Fiecărui subiect, pe lângă o coroborare minuţioasă anamneză - examen clinic, i s-a recomandat realizarea unui examen ortopantomografic (fig. 1).

Toate ortopantomografiile au fost analizate de un singur examinator, folosind o tehnică standardizată, după trasarea imaginii dinţilor pe hârtie de calc cu creion negru de 0,5 mm.

Prelucrarea ortopantomografiilor a presupus trasarea următoarelor structuri:

- ramul ascedent mandibular dreapta-stânga
- ramul orizontal mandibular dreapta-stânga
- conturul apofizelor pterigoide
- conturul dinţilor
- planul de ocluzie – linia tangentă la cuspizii vestibulari ai molarilor temporari/premolarilor şi molarilor inferiori, dreapta – stânga
- axul molarului prim permanent – linia care trece prin centrul coroanei şi centru bifurcaţiei radiculare
- unghiul dintre planul ocluzal şi axul dintelui (fig. 2).

REZULTATE

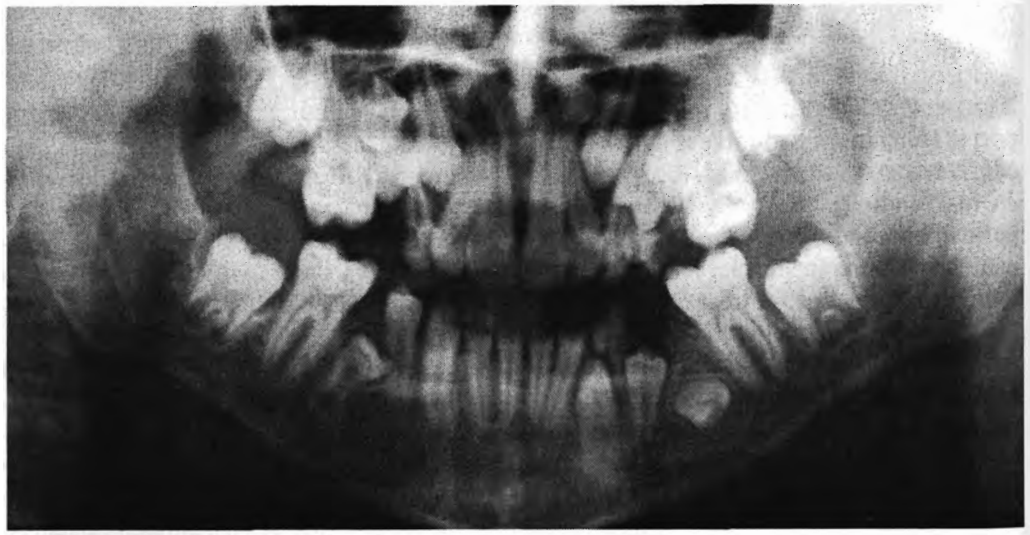


Fig. 1. Aspect ortopantomografic al pierderii premature a molarilor temporari

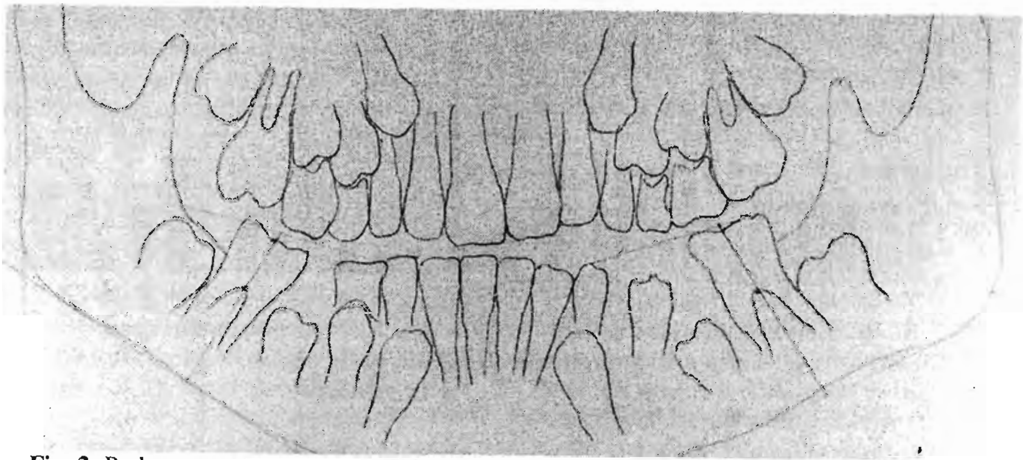


Fig. 2. Prelucrarea ortopantomografiei pentru a evalua axul longitudinal al molarului permanent

TABELUL I

Variaţia înclinării molarului prim permanent în cazul pierderii premature a molarului doi decidual

Înclinarea axului molarului permanent (grade)	Sex					
	Băieţi		Fete		Total	
	n	%	n	%	n	%
61	2	4,34	1	2,17	3	6,52
62	0	0	2	4,34	2	4,34
63	1	2,17	0	0	1	2,17
64	1	2,17	1	2,17	2	4,34
65	0	0	2	4,34	2	4,34
66	1	2,17	1	2,17	2	4,34
67	1	2,17	0	0	1	2,17
68	2	4,34	1	2,17	3	6,52
69	2	4,34	2	4,34	4	8,69
70	3	6,52	4	8,69	7	15,21
71	2	4,34	3	6,52	5	10,86
72	0	0	1	2,17	1	2,17
73	0	0	0	0	0	0
74	1	2,17	2	4,34	3	6,52
75	1	2,17	1	2,17	2	4,34
76	0	0	0	0	0	0
77	1	2,17	3	6,52	4	8,69
78	0	0	0	0	0	0
79	1	2,17	0	0	1	2,17
83	0	0	1	2,17	1	2,17
88	0	0	1	2,17	1	2,17
95	1	2,17	0	0	1	2,17
Total	20		26		46	

Lotul de studiu a cuprins 94 de ortopantomografii, dintre care 41 la pacienţi de sex masculin şi 53 la pacienţi de sex feminin. Vârsta medie pentru ambele sexe a fost de 7,5 ani. Dintre acestea 48 prezentau pierdere prematură a molarului unu temporar mandibular (27 fete şi 21 băieţi) şi 46 prezentau pierdere prematură a molarului doi temporar mandibular (26 fete şi 20 băieţi). Pe baza unghiului format de axul longitudinal al molarului prim permanent cu planul de ocluzie s-a aplicat următoarea clasificare a poziţiei molarului 1 :

1. poziţie corectă – unghi cuprins între +80° şi +100° faţă de planul ocluzal

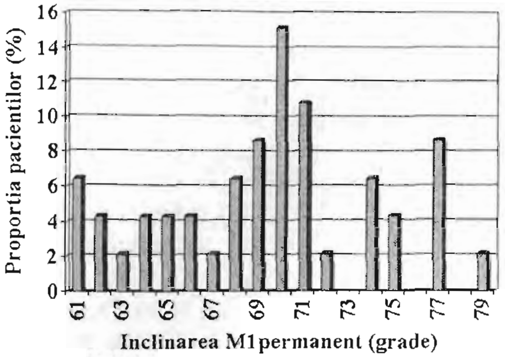


Fig. 3. Înclinarea molarului prim permanent în raport cu planul ocluzal în cazul pierderii premature a molarului doi temporar

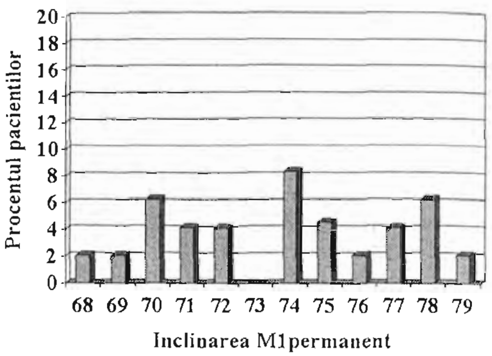


Fig. 4. Variaţia axului longitudinal al molarului prim permanent în cazul pierderii premature a molarului unu decidual

2. poziţie incorectă, afectată de pierderea prematură:

a. mezio-versie – unghi mai mic de +80° faţă de planul ocluzal

b. disto-versie – unghi mai mare de +100° raportat la planul ocluzal.

În cazurile cu pierdere prematură a molarului doi temporar mandibular nu s-a întâlnit în nici o situaţie distoversia molarului prim permanent, în schimb s-au găsit 3 cazuri de poziţie corectă şi 43 de cazuri cu mezioversia molarului prim permanent (tab. I).

Mezio-angulaţia medie a fost de +70° şi a variat de la +61° grade la +79°, fără diferenţă statistică semnificativă între sexe (fig. 3). În cazurile cu pierdere prematură a molarului unu temporar mandibular s-au întâlnit 21 cazuri cu poziţia corectă a molarului prim permanent inferior, iar restul cazurilor, de 27, prezentau mezioversia molarului prim inferior, care a variat între +68° şi +79° (fig.4).

DISCUŢII

Pierderea prematură a molarilor temporari are ca principală consecinţă reducerea spaţiului necesar pentru erupţia premolarilor şi pentru redresarea incongruenţelor dento-alveolare frontale mici, care în mod normal se realizează pe seama leeway-space-ului (5). Deşi factori individuali ca secvenţa şi periodicitatea erupţiei, caracteristicile scheletale şi musculare, factorii parodontali şi creşterea pot influenţa aceste modificări, efectul principal al pierderii premature a molarilor temporari poate este legat de gradul înclinării dinţilor adiacenţi. La ambele arcade cea mai mare cantitate de spaţiu pierdută se datorează înclinării molarilor permanenţi spre mezial. Înclinarea dentară este dependentă în principal de vârsta dentară în momentul extracţiei, intercuspidare şi condiţiile de spaţiu (6, 7).

Pierderea prematură a molarului doi temporar mandibular determină o pierdere mai mare a leeway-space-ului decât cea a molarul unu temporar, atât datorită diferenţei mai mari a diametrului mezio-distal (mai mare în primul caz) cât şi faptului că molarul prim permanent îşi pierde punctul de contact şi urmează tendinţa tuturor dinţilor de a se mezializa, lucru confirmat şi de studiul nostru, care a arătat o mezio-versie mai accentuată în primul caz. Rezultatele acestui studiu sunt în concordanţă cu cercetările lui Cuoghi et al. şi Lin YT şi al., care au găsit o pierdere mai mare a spaţiului la mandibulă, care apare atât prin mezializarea molarului prim permanent cât şi prin distalizarea caninului (8,9).

CONCLUZII

Reducerea lungimii arcadei se observă atât la maxilar cât şi la mandibulă la nivelul regiunii molare ca urmare a pierderii premature a molarilor deciduali. Ea apare în special prin migrarea mezială a molarilor ce delimitează distal breşa, prin modificarea astfel a înclinării axului lor de implantare în os, dar şi, într-o măsură mai mică, prin migrarea distală a caninului.

Evaluarea ortopantomografică este utilă în observarea poziţiei dinţilor, a înclinării lor şi aprecierea necesarul de spaţiu, permiţând astfel o primă orientare terapeutică a cazului.

BIBLIOGRAFIE

1. Padma Kumari B, Retnakumari N. Loss of space and changes in the dental arch after premature loss of the lower primary molars: a longitudinal study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2006; 24 (2): 90-96.
2. Lin YT, Lin WH, Lin YT. Immediate and six-month space changes after premature loss of a primary maxillary first molar. *JADA* 2007; 138: 362-368.
3. Northway W, Wainright R, Demirjian A. Effects of premature loss of deciduous molars. *Angle Orthod* 1984; 54 (4): 259- 329.
4. Bishara SE, Hoppens BJ, Jakobsen JR, Kohout FJ. Changes in the molar relationship between the deciduous and permanent dentitions: a longitudinal study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1988; 93 (1): 19-28.
5. Tunison W, Flores-Mir C, ElBadrawy H, Nassar U, El-Bialy T. Dental arch space changes following premature loss of primary first molars: a systematic review. *Pediatr Dent* 2008; 30: 297-302.
6. Rao AK, Sarkar S. Changes in the arch length following premature loss of deciduous molars. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 1999; 17 (1): 29-32.
7. Choonara SA. Orthodontic space maintenance – a review of current concepts and methods. *SADJ* 2005; 60 (3): 113, 115-117.
8. Coughi OA, Bertoz FA, de Mendonca MR, Santos EC. Loss of space and dental arch length after the loss of the lower first primary molar: a longitudinal study. *J Clin Pediatr Dent* 1998; 22 (2): 117-120.
9. Lin YT, Chang LC. Space changes after premature loss of the mandibular primary first molar: a longitudinal study. *J Clin Pediatr Dent* 1998; 22 (4): 311 316.

NOUTĂŢI

PROGRAMAREA INTRAUTERINĂ A ÎMBĂTRÂNIRII

Se ştie că alterările ADN sunt responsabile pentru iniţierea mutaţiilor care conduc la diverse cancere, iar leziunile genomice pot altera funcţiile genelor individuale, cum ar fi protooncogenele sau diverşi supresori tumorali. În prezent se conturează tot mai mult teoria conform căreia acumulări de ADN alterat sunt direct implicate în declanşarea îmbătrânirii, deşi măsura în care expunerea predilect intrauterină la alterări ADN poate compromite durata de viaţă nu poate fi încă precizată. Îmbătrânirea este o consecinţă a degenerării progresive a organismului, survenind printr-o acumulare treptată de ADN alterat, care, în final, va limita capacitatea de regenerare a ţesuturilor. Pe de altă parte, perturbări ale dezvoltării fetale pot influenţa apariţia unor afecţiuni diverse la adult - fenomen cunoscut sub numele de "programare intrauterină". În acest context se înscriu şi modificările ADN şi procesul îmbătrânirii, principalul mecanism prin care ADN acţionează fiind acumularea de mutaţii în genele vitale (Capetello OF. Intrauterine programming of ageing. *EMBO Reports* 2009; 11: 32-36).

Carmen Zamfir

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

MODIFICĂRI STRUCTURALE OSOASE ÎN PUNGILE PARODONTALE

R.M. Vataman[1], C. Cotuţiu[2], Şt. Lăcătuşu[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină Dentară
1. Clinica de Odontologie şi Parodontologie
Facultatea de Medicină
2. Disciplina de Histologie

THE BONY MODIFICATIONS IN THE PERIODONTAL POCKETS (Abstract): The aim of this study was to demonstrate the bony structural changes in deep periodontal pockets. **Material and methods**: Bony fragments were taken from the alveolar wall of a group of 24 patients diagnosed with deep periodontal lesions which required the extraction of certain irrecuperable teeth. Fragments were fixed in glutaraldehyde, then decalcified in EDTA 5% and proccesed for electron microscopic examination and a semifinesse sections to microscop „Zeiss Axioscop". **Results**: Both optic and electron microscopy showed: decreaze of bone mineralization and alterations in cholagen structure; the presence of osteoclasts with intense activity and numerous macrofages; at the level of bone marrow, small, insignificant inflammatory reactions, contrasting with the important surrounding modifications; in certain cases though osteolytic reactions occured, the osteoclasts could not by evidenced, on the contrary, numerous macrophages with intense lysosomal enzymes activity were noticed; all the cases showed an alteration of the alveolar bone cholagen. **Conclusion**: Thus, we can better understand the role of primary factors in this bony structures. **Key words**: PERIODONTAL BONY POCKETS, STRUCTURAL MODIFICATIONS, HISTOLOGIC ASPECTS

Ţesuturile parodontale prezintă un înalt grad de plasticitate şi continua lor remaniere demonstrează că au posibilitatea să se adapteze în permanenţă la diferitele agresiuni, pentru a menţine perenitatea funcţiei. Atunci când această adaptare nu mai este posibilă, apare boala parodontală, a cărei evoluţie în timp se manifestă prin modificări structurale ale ţesuturilor sale, putând duce la pierderea organului dentar.

Etiopatogenia parodontitelor marginale cronice este extrem de complexă, existând încă multe necunoscute, fiind rezultatul interacţiunilor multifactoriale dintre agenţii patogeni, rezistenţa ţesuturilor gazdă, factori genetici, imunologici şi anumiţi factori de risc existenţi (1,2,3)

În mod cert microorganismele plăcii sunt responsabile pentru iniţierea şi evoluţia bolii, însă gravitatea modificărilor tisulare depinde de posibilităţile şi puterea de reacţie ale acestora la agresiunea bacteriană (4).

Un rol esenţial în asigurarea rezistenţei osului o are colagenul din structura sa, care este elaborat de către osteoblaste, celule susceptibile a controla calcifierea, deci duritate ţesutului osos (5,6).

Se consideră că în distrugerea colagenului din structurile osoase ar juca un rol esenţial unii mediatorii chimici sub forma enzimelor IL-1, prostaglandina E2(PGE2) şi matricea metaloproteinazelor (MMPs) (7,8).

În lucrarea prezentă ne-am propus să facem cercetări cu privire la unele modalităţi de manifestare ale osului parodontal faţă de agresiune, oglindite histologic, în cazul pungilor parodontale profunde.

MATERIAL ŞI METODĂ

Investigaţiile s-au făcut pe un număr de 24 pacienţi care prezentau leziuni diagnosticate ca parodontite marginale cronice profunde, sub forma unor pungi infraosoase, bolnavii, de ambele sexe, având vârste între 45 şi 65 de ani,.

Examenele clinice şi complementare au permis stabilirea unei etiologii bacteriene, de ordin local. Infiltratul inflamator şi suprasolicitarea a determinat evoluţia gravă a bolii parodontale, fiind depistate la sondaj pungi cu adâncime de peste 8 mm pe toate feţele dintelui şi mobilitate accentuată (gr. III), motive pentru care planul terapeutic a prevăzut extracţia dinţilor în cauză, aceştia fiind nerecuperabili. În aceste condiţii, în timpul extracţiei s-au făcut prelevări de mici fragmente de os parodontal interdentar, alveolar, în cadrul regularizării crestei osoase, cu scopul realizării unor examene histopatologice.

Fragmentele de ţesut osos prelevate bioptic au fost fixate în glutaraldehidă, apoi decalcificate în EDTA 5% şi prelucrate în vederea examinării la microscopul electronic şi a examinării unor secţiuni semifine la microscopul „Zeiss Axioscop".

REZULTATE

Examinările efectuate au evidenţiat leziuni la nivelul osului alveolar sub forma de liză osoasă, însoţite de procese de osteogeneză, raport ce a variat în favoarea unuia sau altuia din cele două procese.

Atât microscopia optică, cât şi cea electronică au reuşit să pună în evidenţă următoarele aspecte:

Diminuarea mineralizării osului, tradusă prin scăderea intensităţii reacţiei Von Kossa (fig. 1). În paralel, pe piesele decalcificate, se remarcă o scădere a birefringenţei la lumina polarizată în coloraţia cu albastru de anilină, traducând o modificare a organizării colagenului (fig. 2);

Au fost evidenţiate osteoclaste, cu intensă activitate pentru enzimele lizozomale şi care ultrastructural prezintă numeroşi corpi denşi şi microvili abundenţi (fig. 3).

Pe lângă aceste aspecte apar numeroase macrofage în plină activitate de endocitoză şi digestie alături de zone de osteoliză (fig. 4). Cu toate aceste modificări importante, la nivelul măduvei osoase nu au fost evidenţiete decât mici şi nesemnificative reacţii inflamatorii, manifestate prin prezenţa a rare mastocite şi macrofage.

Trebuie menţionat că în unele cazuri, deşi au fost puse în evidenţă reacţiile osteolitice, nu au apărut osteoclaste, în schimb s-au observat numeroase macrofage cu o importantă activitate a enzimelor lizozomale (fig. 5)

În toate cazurile a fost găsită o alterare a colagenului din osul alveolar, cu maximă

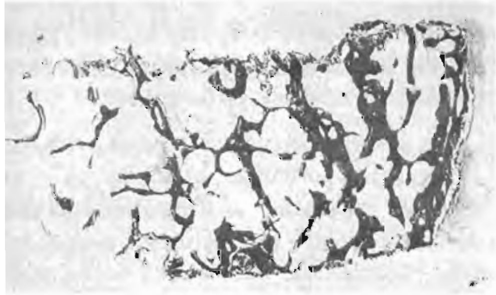


Fig. 1. Biopsie osoasă. Scăderea intensităţii reacţiei pentru calciu, îngustarea trabeculelor. Col. Von Kossa 20x

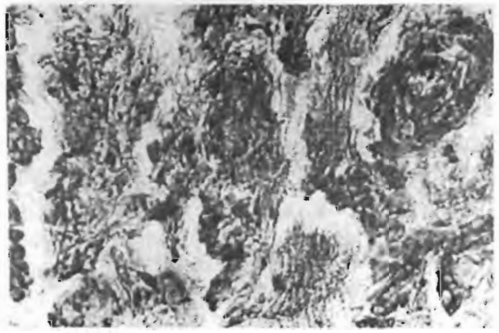


Fig. 2. Matrice osoasă, dezorganizarea colagenului. Col. Albastru anilină, lumină polarizată, 20x

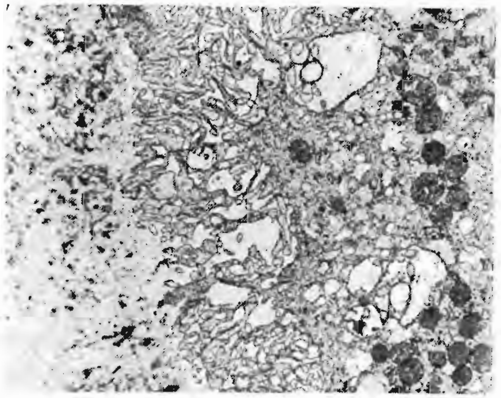


Fig. 3. Osteoclast în activitate resorbtivă. Microscopie electronică 10.000x

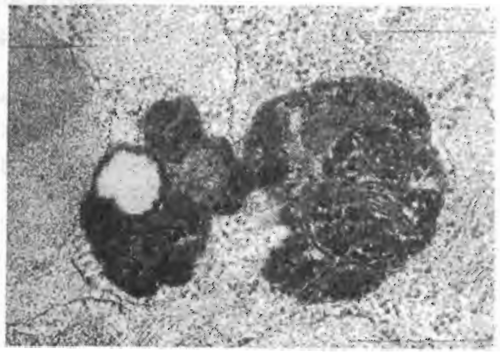


Fig. 5. Fragment de macrofag. Lizozomi. Microscopie electronică 30.000x

intensitate în zona osteolitică, manifestată prin ştergerea periodicităţii caracteristice, tendinţa la creştere în volum şi fragmentare a fibrilelor.

Au fost evidenţiete, de asemenea, modificări caracteristice procesului de edificare a osului.

Pe versantele osoase se remarcă prezenţa de osteoblaste caracteristice, apărând ca celule ovoidale, cu citoplasma bazofilă (fig. 6). Ultrastructural, aceste celule prezintă un pol orientat spre os, cu microvilozităţi bine reprezentate, iar în citoplasmă abundente profile de reticuli endoplasmici rugoşi şi ribozomi liberi. În vecinătatea osteoblastelor apar benzi de colagen cu structura caracteristică, fără însă a prezenta o dispoziţie complet orientată (fig. 7).

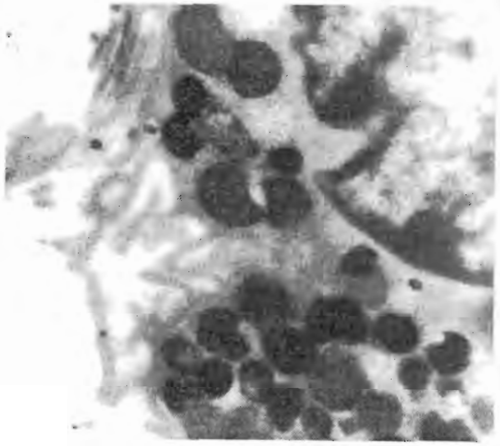


Fig. 4. Macrofag în zona de osteoliză. Microscopie electronică 20.000x

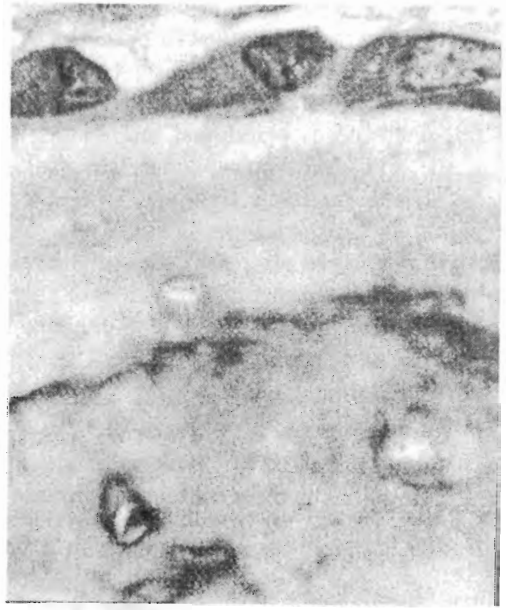


Fig. 6. Versant osos cu osteoblaste active. Col. Albastru toluidină, secţiune semifină 40x

În cazurile cercetate s-a putut evidenţia, în general, „osteoliza osteoclastică", urmată de importante distrucţii osoase. Este de remarcat însă şi o osteoliză fără activitate osteoclastică, dar însoţită de o importantă activitate macrofagică şi granulocitară. Probabil că în aceste cazuri distrucţia este consecinţa activităţii unor enzime

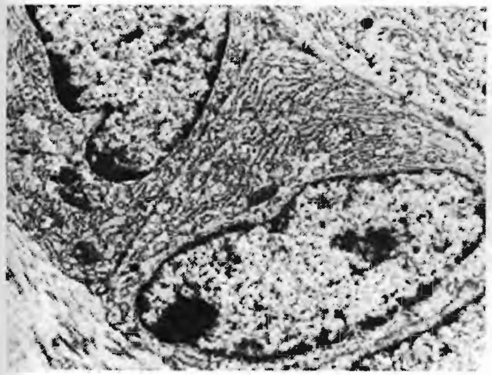


Fig. 7. Osteoblast în activitate de sinteză. Microscopie electronică 20.000x

bacteriene, în cadrul reacţiilor inflamtorii generate de invazia microbiană a parodonţiului. Condiţiile de pH acid şi de tulburări în hemodinamică favorizează, de asemenea, liza osoasă.

DISCUŢII

Osul alveolar, contrar aparenţelor de rigiditate, este cel mai puţin stabil dintre ţesuturile parodontale; structura sa este în continuă remaniere şi participă la menţinerea echilibrului calciului în organism. Calciul se depune şi se retrage permanent din osul alveolar, manţinând homeostazia constantă, iar cel din traveele spongioase fiind mai disponibil ca cel din osul compact (9). Traiectul difuzării inflamaţiei determină forma distrucţiei osoase în parodontopatii.

Forţele ocluzale excesive pot altera ţesuturile de susţinere încât să modifice forma distrucţiei osoase provocate de inflamaţia orizontală, cu leziuni osoase angulare şi cratere sub forma unor pungi infraosoase (10,7).

Distrugerea osului poate începe prin decalcifiere fără acţiunea osteoclastelor, când se produce o lichefiere a matricei organice, urmată de filtrarea mineralelor datorită unor tulburări ale echilibrului fizico-chimic normal. Acest proces este accentuat şi de creşterea vascularizaţiei, care, după Cochran, favorizează resorbţia (6).

În ţesutul conjunctiv al parodonţiului s-au putut observa frecvente asociaţii limfocit-macrofag-mastocit în cadrul unui proces inflamator cronic, manifestare a unei reacţii imunologice celulare (11).

Creşterea numărului osteoclastelor şi a fagocitelor mononucleare explică demineralizarea şi îndepărtarea matricei organice.

În majoritatea cupelor recoltate au fost prezente osteoclastele, dar în proporţie de Ľ aceste elemente caracteristice procesului distructiv al osului au lipsit din câmpul microscopic. Au apărut în schimb numeroase macrofage cu aspecte de activare, care pot fi considerate ca precursori ai osteoclastelor.

CONCLUZII

Ţesutul osos este deosebit de sensibil la agresiunea inflamatorie şi traumatică.

În timp ce osteoclastele apar mai numeroase în traumele ocluzale, în distrucţiile marginale de natură inflamatorie apar mai numeroase macrofagele. S-ar putea considera că tabloul histologic ne poate ajuta să ne îndreptăm atenţia spre agentul etiologic primar.

BIBLIOGRAFIE

1. Graves D. Cytokines that promote periodontal tissue destruction. *J Periodontol* 2008; 79 (8s): 1585-1591
2. Lindhe J. Pathogenesis of plaque-associated periodontal disease. In: *Textbook of Clinical Periodontology*. Munsgaard, 1995, 153-189.
3. Mârţu S, Mocanu C. Semnele clinice ale parodontitelor marginale. In: *Parodontologie clinică*. Iaşi: Ed. Apollonia, 2000, 105-125

4. Dumitriu S, Dumitriu HT. *Etiologia microbiană în parodontitele marginale cronice*. Bucureşti: Ed. Cerna, 1996.
5. Dumitriu HT, Dumitriu S. *Parodontologie*. Bucureşti: Ed. Viaţa Medicală, 1997.
6. Cochran DL. Inflammation and bone loss in periodontal disease. *J Periodontol* 2008; 79 (8s): 1569-1576.
7. Ivany L. *Immunological Aspects of Oral Diseases*. MTP Press Limited, 1986.
8. Jilka RL, Weinstein RS, Parfitt AM, Manolagas SC. Quantifying osteoblast and osteocyte apoptosis: challenges and rewards. *J Bone Miner Res* 2007; 22: 1492-1501.
9. Poiner J et al. Formation, maintenance et reparation squeletiques. In: *Histologie moleculaire*, 5-e ed. Paris: Masson, 1997.
10. RI Genco. Host responses in periodontal diseases. *J Periodontol Res* 1992; 27: 243-246.
11. Ranney RR. Immunological mechanisms of pathogenesis in periodontal diseases: An assessment. *J Periodont Res* 1991; 26: 243-247.

NOUTĂŢI

SAPONINE STEROLICE DIN RĂDĂCINILE *DE TRILLIUM ERECTUM* (BETH ROOT)

Genul *Trillium* (familia *Melanthiaceae*) cuprinde 40 - 50 specii perene răspândite în America de Nord şi Asia de Est. *Trillium erectum* creşte mai ales în regiunile de nord-est ale Americii. Rădăcinile plantei erau utilizate de triburile indiene pentru uşurarea travaliului şi reglarea ciclurilor menstruale. În prezent, extracte din rădăcini se folosesc în tratarea hemoragiilor uterine, precum şi a hemoragiilor de la nivelul căilor urinare şi pulmonare. Extractelor din rădăcini li se atribuie şi proprietăţi antiseptice, astringente, afrodisiace şi uterotonice. În schimb, nu se cunosc principiile active răspunzătoare de efectele menţionate mai sus. În vederea identificării compuşilor biologic activi din rădăcinile de *Trillium erectum*, acestea din urmă au fost extrase cu metanol. Prin purificarea extractului metanolic prin cromatografie de înaltă performanţă pe fază inversă au fost izolate 11 saponine sterolice, 2 ecdisone, 2 polipodine şi acid linoleic. Trei saponine sterolice (bethosidele A, B şi C) au fost izolate pentru prima oară din regnul vegetal. Structura compuşilor izolaţi a fost elucidată prin rezonanţă magnetică nucleară uni- şi bidimensională şi spectrometrie de masă (Hayes PY, Lehmann R, Penman K, Kitching W, De Voss JJ. Steroidal saponins from the roots of *Trillium erectum* (Beth root). *Phytochemistry* 2009; 70 (1): 105-113).

Anca Miron

RELAŢIA DINTRE FIBRILAŢIA ATRIALĂ ŞI PERFUZIA MIOCARDICĂ LA PACIENŢII CU CARDIOMIOPATIE HIPERTROFICĂ

Un grup de medici italieni a realizat un studiu care a avut drept scop evidenţierea relaţiei dintre fibrilaţia atrială şi perfuzia miocardică la pacienţii cu cardiomiopatie hipertrofică. Vascularizaţia miocardică a fost măsurată la 95 pacienţi prin tomografie cu emisie de pozitroni (cu N-13), după ce li s-a administrat dipiridamol. 16 pacienţi aveau asociată fibrilaţia atrială, aceştia fiind de vârstă înaintată şi având şi un diametru atrial mai mare decât cei în ritm sinusal. La pacienţii cu fibrilaţie atrială s-a notat o perfuzie semnificativ mai mică decât la celălalt grup. În urma analizei statistice s-a demonstrat că, la pacienţii cu fibrilaţie atrială, perfuzia miocardică era mult mai scăzută, indiferent de vârstă sau diametrul atrial. Medicii italieni au ajuns la concluzia că pacienţii cu cardiomiopatie hipertrofică şi cu fibrilaţie atrială au o perfuzie miocardică mai redusă decât cei în ritm sinusal stabil. Asocierea dintre disfuncţia coronariană microvasculară şi fibrilaţia atrială este independentă şi sugerează o relaţie cauzală între ele (Sciagra R, Sotgia Barbara, Olivotto I et al. Relationship between AF and blunted hMBF. *J Nucl Cardiol* 2009; 1 (16): 92-96).

Setalia Popa

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

ASPECTE CLINICE ALE TERAPIEI EDENTAŢIEI PARŢIAL ÎNTINSE LA CAZURILE SOCIALE

Anca Musteaţă, Magda-Ecaterina Antohe, Norina Consuela Forna
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicina Dentară
Disciplina Clinica şi Terapia Edentaţiei Parţial Întinse

CLINICAL ASPECTS OF THERAPEUTICAL SOLUTIONS INVOLVED IN ORAL REHABILITATION OF PARTIALLY EDENTULOUS PATIENTS (Abstract): This study aims, at identifying practical ways of approaching social cases, and creating a hierarchy of the final functions of restauration. **Material and method**: In 2008 the Clinical Base for Learning from the School of Dental Medicine, Iaşi, recorded for the Partially Stretched Edentation Clinic and Therapy course a prevalence of biterminal partial edentation (Class I Kennedy)-66.39 per cent from the total number of patients, followed by uniterminal edentation (Class II Kennedy), having 40.24 per cent of the clinical cases, whereas INTERCALATE edentation (Class III Kennedy) , frontal edentation (Class IV Kennedy), and subtotal edentation have about 20.12.1 per cent each. **Results**: The clinical form of edentation contributes to the election of a proper therapeutic solution as well as the odonto-parodontal and muco-osseous status of each clinical case, the patient"s general condition or the socio economic and technical factors leading to a modern, classical or social prothesing. An important aspect to take into account is the large percentage of social cases diagnosed with partially edentation, pleading for provisional prostheses with an established role in therapy, which sometimes may become social prothesing-an outstanding clinical reality. Social cases should be solved with a view to restoring functionality such as lower level redimensioning and cranio-mandibulary repositioning, whereas aesthetic requirements fall into therapies based on metallo-ceramic and hybrid prothesing or implanto-prothetic therapy. **Key words**: SOCIAL CASES, FUNCTIONAL ASPECTS, REMOVABLE PROSTHESIS, BIOMATERIALS

Edentaţia, cu diferitele sale forme reprezintă o entitate clinică complexă, cu profund impact asupra echilibrului sistemului stomatognat, în acelaşi timp având implicaţii majore asupra inserţiei sociale a pacientului, în contextul exigenţelor estetice ce guvernează societatea actuală (1).

Prevalenţa edentaţiei în cadrul diagnosticelor patologiei orale diferă de la o ţară la alta, de la un interval de timp la altul, în funcţie de un cumul factorial materializat de gradul de civilizaţie al ţării respective, în deplin acord cu politicile sanitare şi locul pe care îl ocupă profilaxia în cadrul acestora, fără a eluda gradul de cultură şi viziunea sanogenă a fiecărui subiect în parte (2).

Scopul acestui studiu a fost de a identifica modalităţile practice de soluţionare a cazurilor sociale, realitate clinică cutremurătoare a lumii actuale, cu ierarhizarea predominanţei funcţiilor finale ale restaurării.

MATERIAL ŞI METODĂ

În cadrul Bazei Clinice de Învăţământ a Facultăţii de Medicină Dentară Iaşi, în cadrul disciplinei Clinica şi Terapia Edentaţiei Parţiale Întinse, în cursul anului 2008 s-a remarcat o prevalenţă a edentaţiei par-

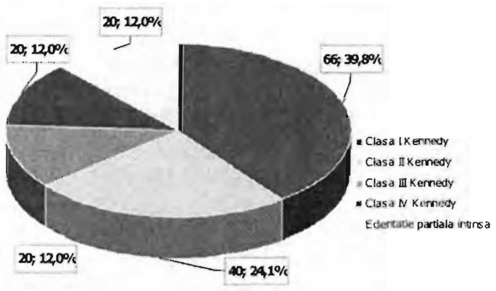


Fig. 1. Repartiţia lotului de studiu pe clase de edentaţie

ţiale biterminale (Clasa I Kennedy) din totalul pacienţilor ce s-au prezentat pentru diagnostic şi tratament de specialitate în proporţie de 66,39%, urmată de edentaţia uniterminală (clasa a II-a Kennedy) ce deţine 24,1% din totalul formelor clinice, edentaţiei intercalate (clasa a III-a Kennedy), edentaţiei frontale (clasa a IV-a Kennedy), edentaţiei subtotale, revenindu-le procente aproximativ egale de 20,12% (fig. 1).

Forma clinică de edentaţie intră în ecuaţia alegerii soluţiei terapeutice de elecţie alături de statusul odonto-parodontal şi mucoosos al fiecărui caz clinic, variabile cu rol important în decizia finală fiind starea generală a pacientului, criteriile socio-economice şi criteriul dotării tehnice, rezultanta analizei acestor elemente ancorând pacientul în teritoriul protezărilor sociale, clasice sau moderne.

Un aspect important ce trebuie luat în seamă este reprezentat de procentul de 41,61% de pacienţi diagnosticaţi cu edentaţie parţial întinsă cu statut de cazuri sociale, ceea ce pledează pentru protezările provizorii, cu rol bine stabilit în algoritmul terapeutic, a căror longevitate poate imbraca adeseori valenţe de protezare socială, materializându-se într-o realitate clinică incontestabilă (fig. 2) (3).

REZULTATE ŞI DISCUŢII

În arealul de soluţii terapeutice alese pentru terapia edentaţiei parţial întinse pe lângă terapia socială, ce deţine un compartiment diferit de cazuri sociale a căror particularitate morfo-funcţională au atras protezări mobile moderne, într-o reprezentare semnificativă s-au regăsit protezările amovibile ce utilizează ca mijloace de ancorare attachement-urile, aceste sisteme speciale ce conferă confort pacientului, un procent de 10,14% revenind reunirii metodelor moderne la nivelul unui maxilar şi al protezării acrilice la celălalt, marker al provizoratului sau socialului până la posibilitarea reabilitării specifice a câmpului protetic la acel nivel în vederea alegerii unei soluţii terapeutice de elecţie, utilizând biomateriale şi tehnologii actuale (fig. 3)(4).

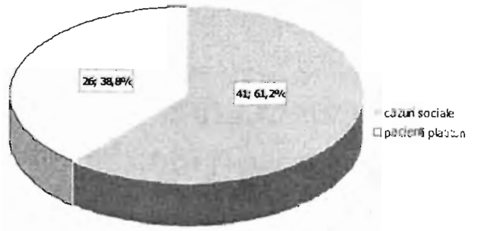


Fig. 2. Prevalenţa cazurilor sociale în structura lotului analizat (pacienţi cu edentaţie parţial întinsă care au fost trataţi în Baza Clinică de Învăţământ a Facultăţii de Medicină Dentară)

Edentaţia parţială întinsă ca şi entitate clinică se regăseşte frecvent după vârsta de 45 %, pe această idee generală a studiilor epidemiologice grefându-se şi datele obţinute ulterior prelucrării statistice a principalilor parametri ce caracterizează statusul general al subiecţilor lotului nostru de studiu, înregistrându-se un maxim pentru edentaţia parţial întinsă şi subtotală în intervalul 55-64 ani, sexul cel mai interesat fiind cel feminin (fig. 4).

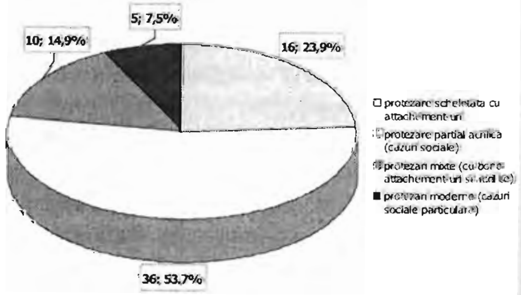


Fig. 3. Prevalenţa soluţiilor terapeutice moderne în cadrul soluţiilor terapeutice la lotul analizat (pacienţi cu edentaţie parţial întinsă care au fost trataţi în Baza Clinică de Învăţământ a Facultăţii de Medicină Dentară - anul V de studiu)

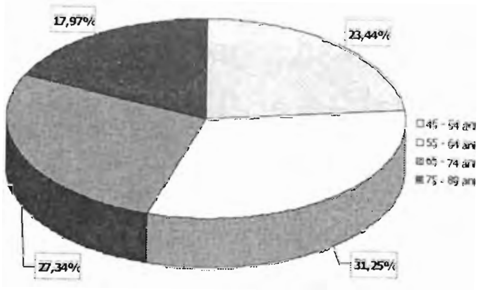


Fig. 4. Structura lotului studiat pe grupe de vârstă

Reprezentativ pentru rezolvările sociale este un caz în vârstă de 49 ani, afectat prin edentaţie biterminală, clasa a I-a Kennedy maxilar şi mandibular (fig. 5).

Indicii loco-regionali sunt caracterizaţi de aspectele negative cantonate la nivelul ATM, notând aspecte de dinamică mandibulară caracterizată de excursii condiliene asimetrice, ce acompaniază laterodeviaţia de partea stângă.

Referitor la indicii clinico-biologici locali odonto-parodontali, se remarcă un număr redus de unităţi odonto-parodontale, cu volum coronar redus ce se reflectă în subdimensionarea etajului inferior şi abrazie accentuată generalizată (6).

În ceea ce priveşte parodonţiul, remarcăm recesiunea parodontală însoţită de indicele clinico-biologic radiologic care indică fenomenul de liză osoasă în plan orizontal, aspecte acompaniate de mobilitate dentară de gradul 1.

Suportul muco-osos este caracterizat de prezenţa mucoasei reziliente, a crestelor neregulate, indici negativi ce pot fi pozitivaţi prin intermediul pregătirii specifice sau a alegerii unui biomaterial cu structură adaptată acestor particularităţi.

Aspectele negative legate de ocluzie rezidă în modificarea parametrilor ocluziei statice, datorită distrucţiilor coronare întinse la elementele odonto-parodontale existente, antrenând modificări ale traiecto-

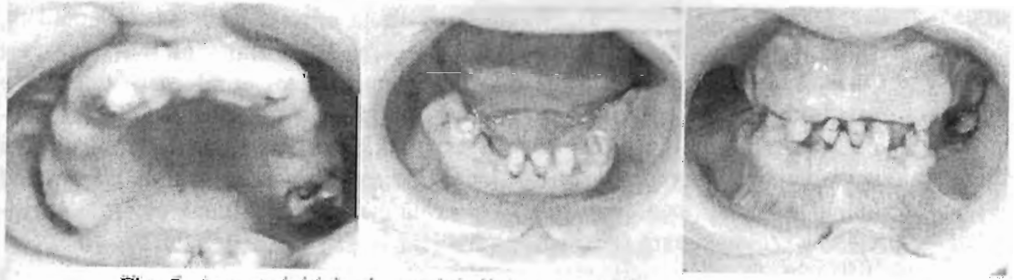


Fig. 5. Aspecte iniţiale ale cazului clinic ce necesită reabilitare orală complexă

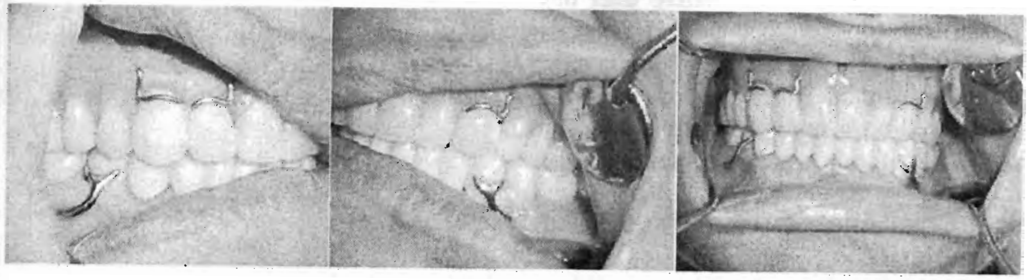


Fig. 6. Aspecte finale ale cazului clinic

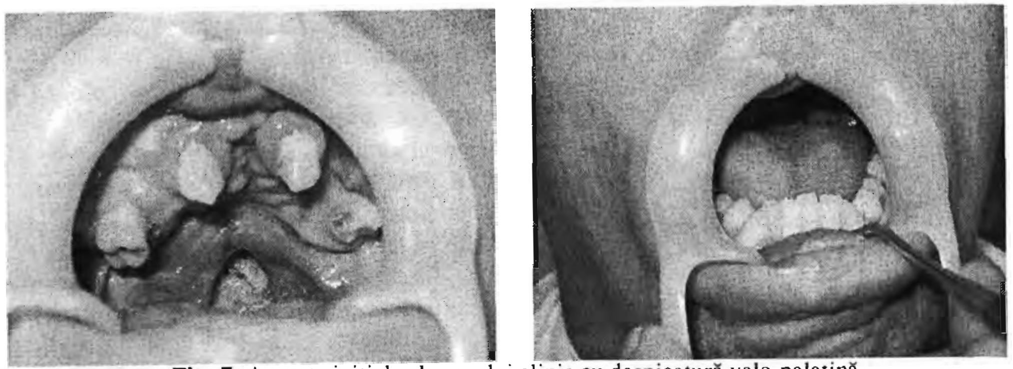


Fig. 7. Aspecte iniţiale ale cazului clinic cu despicatură velo-palatină

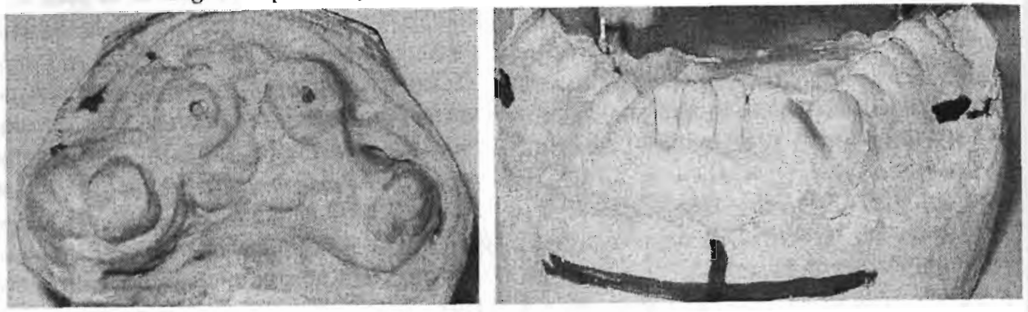


Fig. 8. Aspecte ale modelelor de studiu

riilor ocluziei dinamice, criterii evaluative ce vor fi luate în calcul în cadrul protezării provizorii, esenţiale pentru reabilitarea acestui caz clinic.

Această variantă terapeutică provizorie, în contextul unei ierarhizări corecte a planului terapeutic, sub semnul criteriilor socio-economice favorabile, ar trebui să prefaţeze reabilitarea implanto-protetică de elecţie pentru câmpul protetic, manoperă precedată de pregătire preimplantară (augmentare şi sinus lift) (fig. 6).

Ne confruntăm cu sechelele unei despicături maxilo-palatine, din nefericire intervenţiile chirurgicale nu au redat un câmp protetic favorabil, interventia de chirurgie ortognată nu a putut fi transpusă în plan practic, în aceste condiţii protezarea scheletată cu elemente speciale a constituit soluţia terapeutică de elecţie în acest caz clinic (fig. 7).

Elementele de incongruenţă la nivel mandibular au creat reale probleme in restabilirea rapoartelor ocluzale .

Analiza modelelor de studiu oferă imaginea clară a unei realităţi de necontestat, materializată printr-o boltă palatină mutilată, cu ştergerea reliefului cunoscut, în acest context amputarea caninilor, impunându-se ca o condiţie sine-qua-non de refacere ulterioară a arhitecturii maxilare , conferind buzei superioare o plenitudine optimă, facilitând în egală masură repoziţionarea cranio-mandibulară (fig. 8,9).

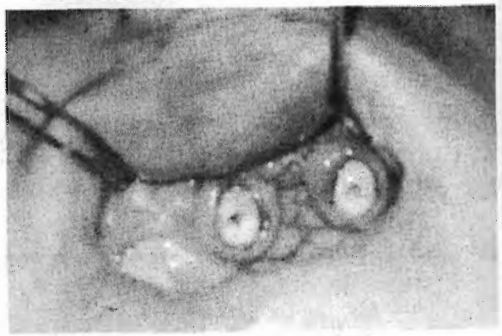


Fig. 9. Aspecte ale substructurilor organice preparate în vederea aplicării sistemelor speciale

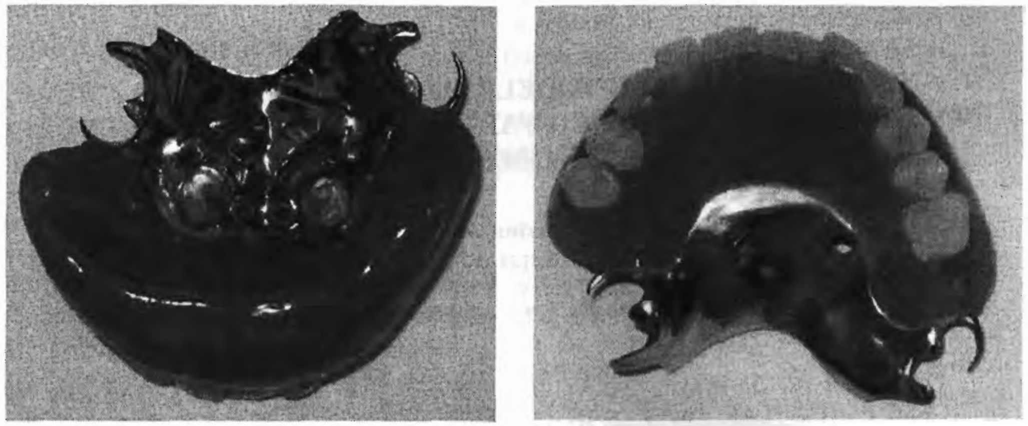


Fig. 10. Aspectul final al protezei scheletate

Aspectele de microstomie au oferit elemente particulare în abordarea terapeutică, conferind un înalt grad de dificultate corelate cu sechelele cicatriceale labiale superioare.

Utilizarea machetei diagnostice a constituit o etapă importantă de prefigurare a viitoarei construcţii protetice., analizând redimensionarea dimensiunii etajului inferior, configurarea suportului pentru buza superioară, un aspect forte important revenind refacerii rapoartelor ocluzale.

Protezarea scheletată, ce a utilizat mijloace speciale de menţinere, sprijin şi stabilizare la nivelul caninilor, ce au fost amputaţi şi acoperiţi de dispozitive corono-radiculare, permiţând asfel vestibularizarea buzei superioare şi redarea unui echilibru dento-somato facial (fig. 10).

Este foarte important să punem în balanţă variantele terapeutice şi mai ales cum să surmontăm obstacolele legate de particularitatea cazului clinic şi criteriile socoeconomice ce vor guverna mereu transpunerea in practica a variantelor terapeutice (7).

Un aspect important, este că deşi ancorate în teritoriul cazurilor sociale, ultimele 2 situaţii au fost rezolvate prin soluţii de elecţie dictate de particularitatea cazurilor.

CONCLUZII

Cazurile sociale sunt guvernate de rezolvarea din punct de vedere funcţional, în vederea redimensionării etajului inferior şi repoziţionarea cranio-mandibulară, valenţele estetice fiind acoperite de celelalte variante terapeutice ancorate în teritoriul protezărilor metalo-ceramice, protezări hibride şi terapia implanto-protetică.

BIBLIOGRAFIE

1. Forna N, Burlui V. *Clinical Guidelines and Principles in the Therapy of Partial Extended Edentation.* Iaşi : Ed. Apollonia, 2001, 470-477.
2. Forna N. *Evaluarea stării de sănătate afectate prin edentaţie.* Iaşi : Ed. Demiurg, 2007, 25-26.
3. Forna N, Antohe ME. *Reabilitarea pierderilor de substanţă.* Iaşi : Ed. Demiurg, 2007, 180-186.
4. Büchter A, Kleinheinz J, Wiesmann HP, Jayaranan M, Joos U, Meyer U. Interface reaction at dental implants inserted in condensed bone. *Clin Oral Implan Res* 2005 ; 16 : 509-517.
5. *** www.clinical-house.com
6. Sethi A, Kaus T, Sochor P. The use of angulated abutments in implant dentistry : five-year clinical results of an ongoing prospective study. *Int J Oral Max Implan* 2000 ; 15 : 801-810.
7. Eger DE, Gunsolley JC, Feldman S. Comparison of angled and standard abutments and their effect on clinical outcomes : a preliminary report. *Int J Oral Max Implan* 2000 ; 15 : 819-823.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

MEDICINĂ DENTARĂ **ARTICOLE ORIGINALE**

STUDIU PRIVIND METODELE DE EVALUARE PARACLINICĂ NONINVAZIVĂ ÎN ACORD CU PARTICULARITATEA CAZULUI CLINIC DIAGNOSTICAT CU EDENTAŢIE PARŢIAL ÎNTINSĂ

R. Stamate, Magda-Ecaterina Antohe, Norina Consuela Forna
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină Dentară
Disciplina Clinica şi Terapia Edentaţiei Parţial Întinse

STUDY ON NONINVASIVE PARACLINIC EVALUATION METHODS ACCORDING TO CASE PARTICULAR ASPECTS IN PATIENTS DIAGNOSED WITH PARTIAL EDENTATION (Abstract): The aim of this study quantifies the contribution of the non invasive and minimally invasive methods of paraclinic evaluation corroborated with the clinical aspects, a particularly important element being represented by the inter-relation between the general condition - oral pathology. **Material and method**: The study group was represented by patients with ages between 18 and 35 years, diagnosed with partial edentation, with various problems of the general condition. To the same extent, with concern to the study group a special emphasis was placed on the paraclinical results and the therapeutic trajectories directed by the use of the diagnodent, without ignoring the role the digital radiography has in the diagnostic stage as well as the therapeutic one. **Results**: The results obtained subsequent to the thermographic evaluation showed the initially hidden character of the general symptomatology, the patient being unaware of the presence of any pathology at the level of the apparatus and systems, factor which could have interfered negatively with the pathology specific to the field of dental medicine. Creating a hierarchy, the link offered by the thermogram between the systems and the dental segment is already known. The pathology under investigation, both at an oral level and at a general one pleads for the correlative aspects of the binomial dental unit - affected organ, the modifications of the thermographic trajectories for the somatic area analyzed after the specific therapy being eloquent. **Key words**: EDENTATION, NONINVASIVE METHODS, DIAGNODENT, GENERAL STATUS

Intervalul de vârstă 18-35 ani reuneşte un lot de pacienţi cu particularităţi morfofuncţionale ce-şi pun amprenta în mod decisiv asupra abordării terapeutice în teritoriul edentaţiei parţiale, aspect ce include corelarea acestor parametri cu starea generală (1). Aspectele specifice ale câmpului protetic atrag în mod indiscutabil metode noninvazive şi minim invazive de tratament, elemente bazale ce conduc la elaborarea unui diagnostic de precizie şi la derularea unui plan terapeutic individualizat pentru acest tip de pacienţi (2).

SCOP

Scopul acestui studiu vizează cuantificarea aportului metodelor noninvazive şi minim invazive de evaluare paraclinică, coroborate cu aspectele clinice, un element deosebit de important fiind reprezentat de interrelaţia stare generală - patologie orală, stabilindu-se în acelaşi timp tipul de examen paraclinic ce dublează evaluarea iniţială termografică în vederea elaborării unui diagnostic de precizie şi a stabilirii unui plan de tratament individualizat, grefat pe specificul morfofuncţional al lotului de vârstă 18-35 ani.

MATERIAL ŞI METODĂ

Lotul de studiu a fost reprezentat de pacienţi cu vârste cuprinse între 18 şi 35 de ani, diagnosticaţi cu edentaţie parţială, cu diferite afectări ale stării generale. În egală masură, la lotul de studiu s-a pus un accent deosebit pe rezultatele paraclinice şi traiectoriile terapeutice trasate de utilizarea diagnodentului, fără a omite rolul pe care îl are radiografia digitală în etapa de diagnostic precum şi în cea terapeutică.

Într-un prim timp s-a realizat examenul clinic după algoritmul clasic, rezultatele acestuia indicând tipul de examen noninvaziv sau minim invaziv realizat.

Termografia reprezintă un examen general noninvaziv ce a fost realizat la toţi cei 210 pacienţi ai lotului de studiu. Ulterior stabilirii prin metode statistice a elementelor corelative dintre starea generală şi patologia orală, 22 de pacienţi au fost evaluaţi paraclinic prin intermediul pletismografului în raport cu elementele corelative stabilite între starea generală şi aspectele clinice ale patologiei orale, 40 de pacienţi au fost evaluaţi paraclinic prin intermediul radiografiei digitale, la restul de pacienţilor examenele paraclinice specifice medicinei dentare tip ortopantomografie, tomografie ATM, computer-tomograf.

În acelaşi timp, examenele paraclinice noninvazive au fost dublate de examene clasice tip ortopantomografie sau tomografie. Pentru înregistrarea termogramelor s-a folosit aparatul de măsurare CRT 2000.

Pentru a putea aborda tot complexul fiziologic reglator, măsurarea se va efectua dimineaţa.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

1. Structura lotului pe intervale de vârstă (fig. 1) dihotomizează pacienţii în două intervale de vârstă: 18-25 şi 25-35 de ani. Se remarcă un procent de 71,43% la intervalul de vârstă 25-35 de ani, aspect important deoarece pe particularităţile psihosomatice specifice acestui interval începe să se grefeze o patologie orală complexă, la graniţa dintre juventostomtologie şi medicina dentară a adultului. Grefat pe caracteristicile juventostomatologiei este intervalul de vârstă 18-25 de ani, ce indică prevalenţa soluţiilor terapeutice minim invazive, atât la nivelul suportului odonto-parodontal cât şi muco-osos.

2. În ce priveşte repartiţia lotului pe sexe remarcăm un procent de 57,14 % corespunzător sexului feminin, comparativ cu un procent de 42,86 % corespunzător sexului masculin (fig. 2). Prevalenţa sexului feminin pledează pentru exigenţele estetice ce trebuie să guverneze soluţia terapeutică aleasă în teritoriul edentaţiei parţiale, indice general care corelat cu vârsta va sta la baza indicaţiilor soluţiilor de avangardă,

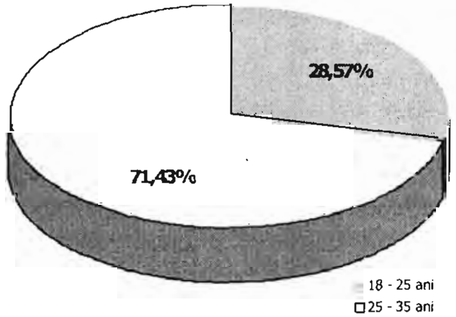


Fig. 1. Reprezentarea grafică a structurii lotului pe intervale de vârstă

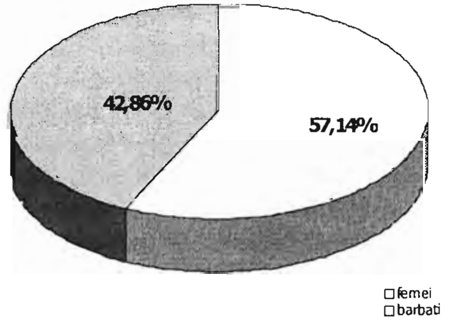


Fig. 2. Reprezentarea grafică a structurii lotului pe sexe

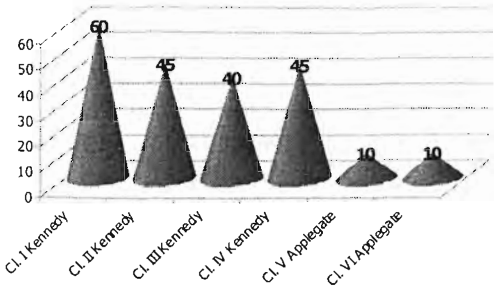


Fig. 3. Distribuţia lotului pe clase de edentaţie

reprezentate de terapia implantoprotetică la acest lot de pacienţi.

4. Aspectele referitoare la distribuţia lotului pe clase de edentaţie relevă complexitatea patologiei identificate la cei 210 pacienţi cu vârste cuprinse între 18-35 ani, reunind următoarele clase de edentaţie: edentaţii: cls. I Kennedy - 60 de pacienţi, edentaţii cls. II Kennedy - 45 de pacienţi, edentaţii cls. III Kennedy - 40 de pacienţi, edentaţii cls. IV Kennedy - 45 de pacienţi, edentaţii cls V Applegate -10 de pacienţi, edentaţii cls VI Applegate -10 de pacienţi (fig. 3).

Fiecare clasă de edentaţie atrage un tablou clinic specific, coroborat cu topografia edentaţiei, binom ce conduce la individualizarea alegerii soluţiei de elecţie, grefată pe aspectele specifice stării generale.

Termografia, examen non-invaziv ce decelează pe baza diferenţelor de temperatură afecţiunile aparatelor şi sistemelor, realizează în acelaşi timp aspectele corelative dintre starea generală şi patologia orală, traiectorii de diagnostic precoce ce vor fi dublate de examene specifice zonelor afectate.

Rezultatele obţinute ulterior evaluării termografice au relevat caracterul iniţial inaparent al simptomatologiei generale, pacientul neavând cunoştinţă de prezenţa vreunei patologii la nivelul aparatelor şi sistemelor, factor ce ar fi putut interfera negativ cu patologia specifică teritoriului medicinei dentare. Ierarhizând, este cunoscută legătura oferită de termogramă între sisteme şi segmentul dentar.

În ce priveşte modificarea parametrilor termici ce indică afectarea cardiacă la un număr de 40 de pacienţi investigaţi termografic, s-a indicat dublarea ulterioară de examenele de specialitate, ce au indicat entitatea clinică specifică, aceasta patologie deţinând procentul cel mai mare , urmat de patologia respiratorie, celelalte patologii deţinând procente mai reduse, conform figurii 4.

Grefat pe structura generală a lotului evaluat, am selectat cazuri clinice reprezentative din punctul de vedere al corelaţiilor stabilite între traseele termografice ce reflectă starea generală şi traseele ce indică modificări în aria de măsurare dentară şi teritoriul cefalic.

Elementul fundamental ce stă la baza acestor corelaţii dublate ulterior de examenele clinice şi paraclinice specifice fiecărei direcţii orientative diagnostice, este reprezentat de asociaţiile preexistente între afectarea structurii odontale şi afectarea organică la nivelul căreia se reflectă organul respectiv, abordând astfel o viziune integrativ holistică terapeutică la pacienţii tineri (3).

Pacienta S.M., 32 ani, ce prezintă în antecedente: meningită (2-3 ani) şi bronşită astmatiformă la 4 ani.

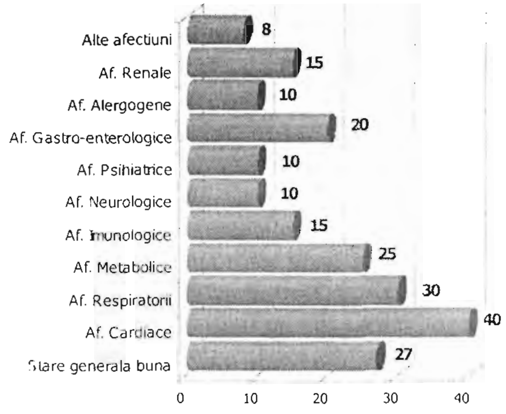


Fig. 4. Structura lotului pe afecţiuni înregistrate prin evaluare termografică

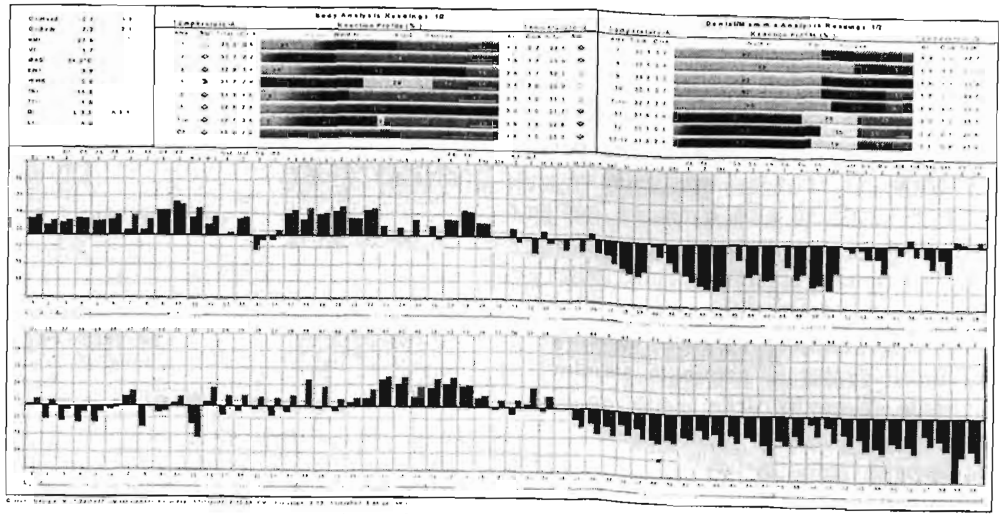


Fig. 5. Termogramă pacientă S.M.

În urma investigării termografice (fig. 5) s-a pus în evidenţă un indice de vitalitate 1,8 (relativ redus) ce indică o activitate metabolică redusă asociată deseori prezenţei unor afecţiuni cronice sistemice (simptome digestive, simptomatologie renală) sau autoimune.

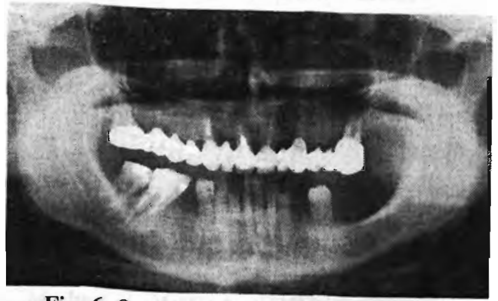


Fig. 6. Ortopantomografie pacientă S.M.

Aspectele ortopantomografice (fig. 6) indică resorbţie accentuată la nivelul suportului osos, predominant maxilar, cu zone osteitice la nivel 11, 12, 17, 27, elemente de patologie orală cuantificabile clinic şi paraclinic prin însumarea semnelor, simptomelor şi parametrilor radiologici ce se reflectă în evaluarea termografică a stării generale (4). Planul terapeutic vizează într-un prim timp îndepărtarea focarelor infecţioase, etapă terapeutică derulată imediat după ablaţia restaurărilor fixe metalo-acrilice, infrastructura metalică având efecte negative asupra structurilor locale şi a stării generale, gaudentul fiind din ce în ce mai limitat în

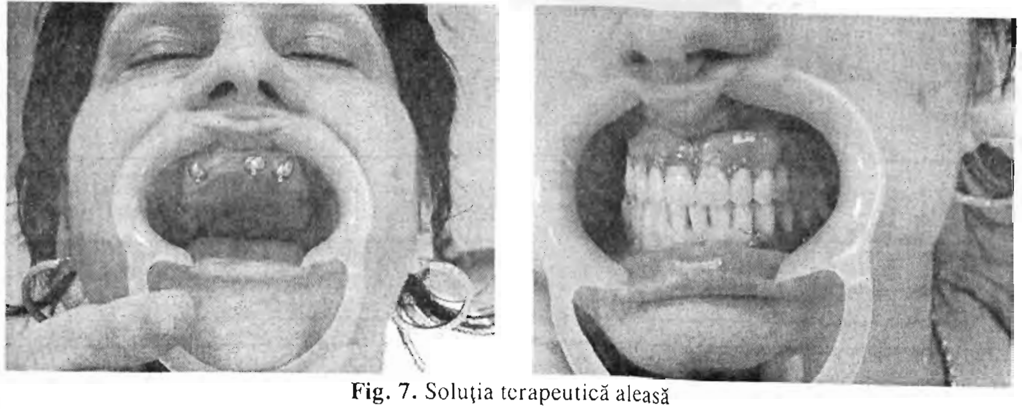


Fig. 7. Soluţia terapeutică aleasă

practica stomatologică.

Soluţia terapeutică finală a fost reprezentată de protezarea overdenture la nivel maxilar şi protezare parţial acrilică mandibular, etapă tranzitorie de protezare, pacienta urmând după modificarea parametrilor ce caracterizează sanogenitatea generală şi locală să aibă o terapie implanto-protetică.

Termograma acestui caz clinic indică modificări ale parametrilor termici la nivelul întregii extremităţi cefalice, reflectate în teritoriul dentar în patologia parodontală, corelate cu modificările induse de biomaterialele tip acrilat şi gaudent, ce au condus la apariţia reacţiilor de tip inflamator la nivel parodontal (7,8).

Ulterior îndepărtării restaurărilor protetice din gaudent şi a iniţierii terapiei parodontale, în acelaşi timp fiind îndepărtate resturile radiculare irecuperabile, se constată remiterea fenomenelor de blocaj reglator termografic.

Pacientul T.F., în vârstă de 33 de ani, prezintă edentaţie maxilară clasa II Kennedy cu 3 modificări şi clasa I Kennedy cu 1 modificare la mandibulă (fig. 8). Traseul termografic indică în această etapă parametrii generali optimi, cu absenţa blocajelor reglatorii (fig. 9).

Varianta terapeutică a fost reprezentată de soluţia implanto-protetică; la nivel periimplantar constatăm după 4 săptămâni prezenţa osului de neoformaţie (fig. 10), continuitate trabeculară la nivelul suprafeţei implantare, aspecte evidente pe radiografia digitală.

Termograma realizată postimplantar indică uşoare variaţii ale parametrilor termici, atât la nivel dentar, cât şi la nivel general, aspecte rezultante ale procesului de acceptare a substitutului protetic şi de remodelare ulterioară

Termograma la 6 săptămâni indică deja o reglare a parametrilor termici între zona cefalică şi zona parametrilor ce caracterizează statusul somatic.

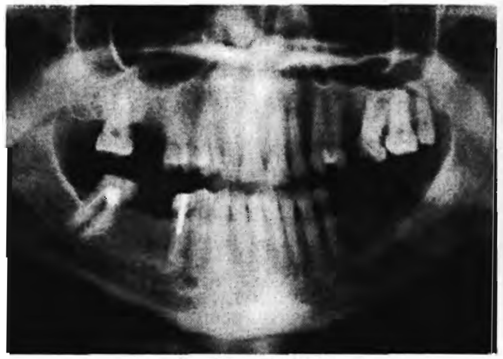


Fig. 8. Ortopantomografie pacient T.F.

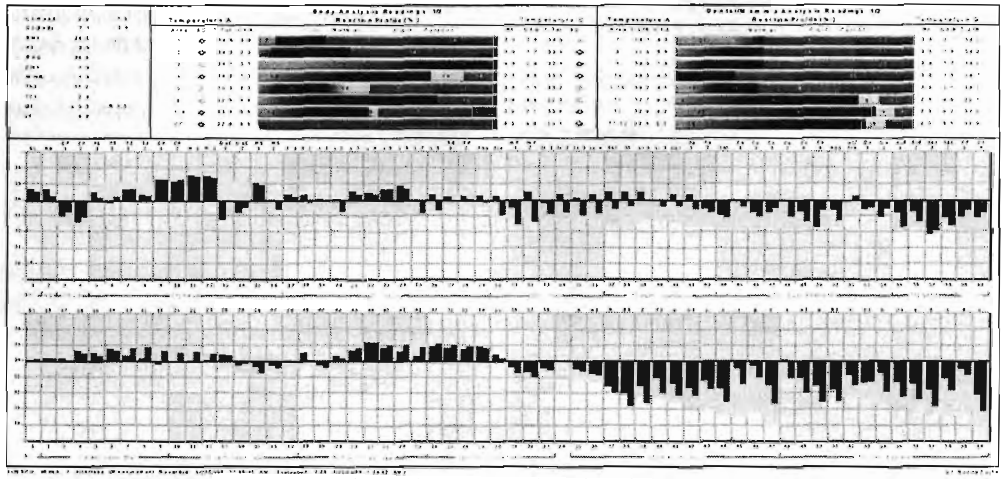


Fig. 9. Termogramă pacient T.F.

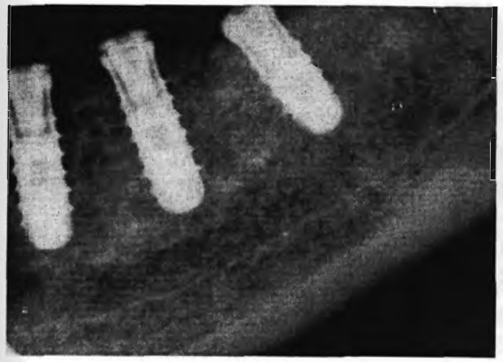


Fig. 10. Aspect al osteo- şi periintegrării implanturilor

Aspectele corelative stabilite între starea generală şi particularităţile patologiei orale sunt evidente şi stau la baza unui diagnostic ţintit, fiind stabilite pe toată perioada terapiei, în acord cu etapele de tratament (5,6).

CONCLUZII

Patologia analizată, atât la nivel oral cât şi general, pledează pentru aspectele corelative ale binomului unitate dentară-organ afectat, elocvente fiind modificările traseelor termografice pentru aria somatică analizată ulterior terapiei specifice stomatologice.

Terapia non-invazivă şi minim invazivă de diagnostic guvernează teritoriul juventostomatologiei, stabilindu-se corelaţii semnificative statistic între starea generală reflectată în traseele termografice şi patologia orală susţinută de examene paraclinice consacrate în medicina dentară.

BIBLIOGRAFIE

1. Forna N, Burlui V. *Clinical Guidelines and Principles in the Therapy of Partial Extended Edentation.* Iaşi: Ed. Apollonia, 2001, 470-477.
2. Forna N. *Evaluarea stării de sănătate afectate prin edentaţie.* Iaşi: Ed. Demiurg, 2007, 25-26.
3. FornaN. *Actualităţi în clinica şi terapia edentaţiei parţial întinse.* Iaşi: Ed. "Gr.T. Popa", 2009.
4. Forna N, Antohe ME. *Reabilitarea pierderilor de substanţă.* Iaşi: Ed. Demiurg, 2007, 180-186.
5. Büchter A, Kleinheinz J, Wiesmann HP, Jayaranan M, Joos U, Meyer U. Interface reaction at dental implants inserted in condensed bone. *Clin Oral Implan Res* 2005; 16: 509-517.
6. *** www.clinical-house.com
7. Sethi A, Kaus T, Sochor P. The use of angulated abutments in implant dentistry: five-year clinical results of an ongoing prospective study. *Int J Oral Max Implan* 2000; 15: 801-810.
8. Eger DE, Gunsolley JC, Feldman S. Comparison of angled and standard abutments and their effect on clinical outcomes: a preliminary report. *Int J Oral Max Implan* 2000; 15: 819-823.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

CONTRIBUŢII LA STUDIUL COMPARATIV AL ACŢIUNII ANTIOXIDANTE A UNOR EXTRACTE PREPARATE DIN FLORI DE MUŞEŢEL

Oana Cioancă, Anca Miron, Ana Clara Aprotosoaie,
Monica Hăncianu, Adriana Trifan, Ursula Stănescu
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Farmacie
Disciplina de Farmacognozie

CONTRIBUTIONS TO THE COMPARATIVE STUDY OF THE ANTIOXIDANT POTENTIAL OF SOME EXTRACTS OBTAINED FROM CHAMOMILAE FLOWERS (Abstract): Within a complex research regarding the pharmaceutical quality of *Chamomillae flos* commercialized in the Romanian pharmaceutical network (as well as the food chain), we investigated 9 samples of chamomile "tea" purchased in April/May 2005 in compliance to the European Pharmacopoeia. **Aim**: Since the vegetal material proved to be very different from the chemical composition point of view we tried to establish the antioxidant activity of some extracts (tinctures and infusions) obtained from the selected plant material. **Material and methods**: Therefore we studied the scavenging abilities observed against DPPH and the ferrous binding propreties correlating its to the polyphenolic content previously determined in the chamomile extracts. **Results**: Surprisingly, the scavenging activity against DPPH indicates similar potential both for the hidro-alcoholic extracts as well as fot the infusions, meanwhile the chelation on the ferrous ion was higher for the tinctures that for infusions and different from one sample to the other. **Key words**: *CHAMOMILLAE FLOS*, TINCTURES, INFUSIONS, POLYPHENOLS, ANTIOXIDANT ACTIVITY

Capitulele florale de muşeţel, *Chamomillae flos,* reprezintă unul din produsele vegetale frecvent utilizate atât în terapie cât şi în alimentaţie sub formă extractivă (infuzii/ceai, extracte hidroalcoolice fluide şi mai rar, solide), datorită acţiunilor pe care componentele bioactive le dezvoltă, dar şi a toleranţei foarte bune. Din punct de vedere terapeutic florile de muşeţel se utilizează pentru acţiunile: spasmolitică, antipeptică, carminativă (în diverse tulburări ale tractului digestiv) şi antiinflamatoare, cicatrizantă şi dermoregeneratoare (extern şi intern în afecţiuni ale mucoaselor şi pielii). De asemenea se cunoaşte că preparatele din muşeţel au un potenţial antitoxic bacterian important, de unde şi tratamentul inhalator în sinuzită, precum şi uşor antimicrobian (1,2).

Datorită acestor efecte produsul vegetal este oferit pe scară largă atât în farmacii cât şi în sectorul alimentar sub forma ceaiului de muşeţel, fiind prezentat fie în ambalaje unidoză (de tip saşet), fie în ambalaje de 50 sau 100 g.

În cadrul unui studiu de mai largă întindere, am analizat calitatea farmaceutică a 9 mostre de *Chamomillae flos* comercializate prin farmaciile din România, toate reprezentând şarje achiziţionate în primăvara anului 2005. Astfel, am urmărit conformitatea farmaceutică a celor 9 probe (din care 5 sub formă de saşet şi 4 în ambalaje de 50/100 g pe care, pentru simplitate, le-am denumit chiar dacă în mod neadecvat, „vrac").

Cercetarea a urmărit conform prescripţiilor Farmacopeei Europene ed. a V-a (3) aspectul macroscopic, microscopic, contaminarea microbiană şi compoziţia chimică a nouă probe, cea de a zecea provenind de la firma Sidroga din Germania, cunoscută fiind pentru controlul strict al calităţii fiecărei şarje şi care a reprezentat produsul nostru de referinţă.

Studiul a fost completat prin urmărirea unor acţiuni biologice, concretizate în determinarea activităţii antioxidante şi respectiv a celei antimicrobiene.

În lucrarea de faţă prezentăm rezultatele investigaţiei cu privire la acţiunea antioxidantă a două tipuri de extracte, tincturi şi infuzii, preparate din mostre de flori de muşeţel.

MATERIAL ŞI METODĂ

S-au luat în studiu 10 mostre de flori de muşeţel, din care 9 au fost considerate probe, fiind comercializate de firme din România, iar cea de a zecea reprezentând martorul produs de Sidroga (Germania). Având în vedere faptul, că toate mostrele reprezentau material vegetal recoltat în 2004 (de vreme ce achiziţia a fost efectuată în aprilie-mai 2005), am considerat ca moment al expirării termenului de valabilitate data de 31 martie 2007. Analizele efectuate s-au desfăşurat până la această dată, pentru a evita ieşirea din termenul de garanţie, care pe majoritatea ambalajelor nu era menţionat, dar care, conform normelor, este de minim doi ani din momentul producerii (ambalării).

Evaluarea activităţii antioxidante a urmărit determinarea capacităţii de scavenger şi cea de chelatare a ionului feros; plecând de la presupunerea că acţiunea trebuie atribuită în primul rând componentelor de tip flavonoide şi acizi polifenolcarboxilici din extracte (terpenele din uleiul volatil extrăgându-se în mai mică măsură), în final am încercat să facem o corelare între intensitatea acestui efect şi conţinutul în principiile active menţionate.

Studiul activităţii antioxidante a fost realizat pe extractele de tip tinctură (DER 1 : 5 g/g, etanol 70°) şi infuzii (DER 0,3 : 10 g/mL, în condiţiile Farmacopeei Române ed. a X-a) (4).

TABELUL I

Variaţia reziduului uscat rezultat după îndepărtarea solventului din tincturi(EUC) respectiv infuzii (LC) şi conţinutul în polifenoli

Proba	EUC g extract uscat la 100g tra	TINCTURI		LC g liofilizat la 100 mL infuzie	INFUZII	
		100 g tra			100 mL infuzie	
		Flavone (g rutozidă)	Ac. polifenolici		Flavone (g rutozidă)	Ac. polifenolici
C0	2,2802	0.05085	0,05144	1,7835	0,02157	0.01138
C1	0,6304	0,02926	0.02962	1,0759	0,01559	0,00496
C2	1,6651	0,02791	0,03303	1,1641	0,01554	0,01042
C3	1,5673	0,03933	0,03732	1.8924	0,02400	0,00842
C4	1,5882	0,02235	0,02404	1,5382	0.01360	0.00670
C5	1,9350	0.03159	0,04616	2,0071	0,02216	0,00914
C6	1,1869	0,02614	0,04167	1,0606	0,01169	0,00662
C7	2,8307	0,03792	0.04976	2.4018	0,01812	0,00914
C8	1,6237	0,03141	0,05041	1.5588	0,01291	0,00636
C9	3,3947	0,03975	0,04369	2,8718	0.01815	0,00670

Provenienţă probe: C0=Sidroga, C1=Belin, C2=Celmar, C3=Fares, C4=Ciprod, C5=Hofigal, C6=Digitalis, C7=Cyani, C8=Stef-Mar, C9=Plafar Botoşani

Soluţiile hidroalcoolice au fost concentrate până la obţinerea extractului uscat corespunzător, în timp ce infuziile au fost îngheţate şi liofilizate. În final pentru fiecare probă în parte s-a cântărit reziduul rămas după îndepărtarea solventului, pentru a putea face corelaţia dintre intensitatea acţiunii şi concentraţia în principii antioxidante.

Pentru simplitatea exprimării, reziduurile uscate rămase după îndepărtarea amestecului de apă/alcool din tincturi au fost codificate EUC0 - EUC9, în timp ce, liofilizatele infuziilor corespunzătoare sunt LC0 - LC9. EUC0 şi LC0 reprezintă probele martor Sidroga.

Din fiecare probă de tip EUC sau LC s-a cântărit o anumită cantitate care a fost dizolvată în DMSO, reprezentând soluţia mamă din care s-au făcut apoi diluţii pe care s-a determinat fie capacitatea de scavenger faţă de radicalul DPPH (difenilpicrilhidrazil), fie activitatea de chelatare a ionului feros.

Pentru determinarea capacităţii de scavenger diluţiile probelor tratate cu soluţie DPPH în metanol, se fotometrează la λ=517 nm, faţă de o soluţie de cvercetol de concentraţie cunoscută utilizată ca martor (5,6).

Capacitatea de chelatare a ionului feros a fost determinată prin adăugarea unei soluţii de clorură feroasă peste probe şi agitare energică, ionul feros fiind complexat de polifenoli. Prin adăugare de ferozină în mediul de reacţie se obţine o coloraţie de tip magenta (roz-*Fuchsia*), spectrofotometrată la λ=562 nm (7).

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Pentru a putea face o corelare între acţiunea antioxidantă propriu-zisă şi intensitatea acesteia, într-o primă fază am urmărit cantitatea de substanţă uscată rezultată pentru fiecare probă la îndepărtarea solventului (alcool în cazul tincturilor respectiv apă pentru infuzii). Astfel am obţinut valorile indicate în tabelul I, care sunt completate cu conţinutul în flavonoide şi acizi polifenolcarboxilici determinat pentru 100 g tinctură (tra) respectiv 100 ml infuzie care au furnizat cantităţile de rezidii uscate EUC şi LC menţionate.

După cum se poate vedea, cu toate că atât tincturile, cât şi infuziile au fost obţinute în condiţii standard, plecând de la aceeaşi cantitate de flori de muşeţel prelucrare cu acelaşi solvent, la aceaşi greutate finală, probele analizate au furnizat cantităţi variabile de extract uscat/liofilizat.

Pentru o înţelegere mai exactă a situaţiei, trebuie să spunem că o cantitate mai mare de reziduu uscat nu înseamnă obligator un conţinut bogat în principii antioxidante, acestea fiind însoţite de numeroase alte componente care pot veni cu un sinergism sau antagonism de acţiune.

TABELUL II

Capacitatea de scavenger faţă de radicali DPPH determinată pentru extractele uscate rezultate în urma îndepărtării solventului din tincturi/infuzii de muşeţel şi CE50 calculată

Proba	mg EUC/mL			CE$_{50}$ (µg/mL)	mg LC/mL			CE$_{50}$ (µg/mL)
	20	10	5		20	10	5	
C0	84,78%	58,53%	42,95%	113,6	84,47%	44,69%	24,50%	155,3
C1	55,83%	36,55%	21,35%	269,8	77,93%	45,80%	26,73%	181,8
C2	70,44%	48,98%	25,13%	171,6	74,81%	48,08%	27,23%	174,5
C3	76,01%	47,92%	22,61%	174,8	73,71%	41,38%	25,19%	199,9
C4	37,99%*	22,80%	11,46%	510,2	56,10%	32,91%	17,50%	277,3
C5	72,00%	47,69%	27,39%	177,4	82,78%	45,02%	25,73%	182,0
C6	80,28%	53,02%	31,27%	150,8	80,14%	52,40%	27,39%	182,2
C7	68,26%	40,53%	22,02%	210,6	67,18%	39,24%	21,24%	217,0
C8	57,89%	37,07%	25,00%	255,8	69,35%	37,59%	22,82%	217,9
C9	45,97%*	29,19%	19,18%	371,6	54,81%	33,61%	18,83%	284,3

*T4 - 40 mg/mL: 57,50%; T9 - 40 mg/mL: 71,42%

Determinând capacitatea de scavenger a probelor faţă de radicalul DPPH, la concentraţiile 20 mg, 10 mg şi 5 mg/mL, am obţinut valorile înregistrate în tabelul II, calculând totodată concentraţiile eficace 50.

Pentru acest test, se consideră că o acţiune de scavenger există pentru concentraţii de substanţă activă care conduc la valori care depăşesc 50% ; după cum putem constata din tabelul II singura diluţie care poate fi luată în consideraţie pentru ambele tipuri de probe (EUC şi LC) sunt cele obţinute cu 20 mg reziduu uscat/mL. Pentru celelalte două diluţii de 10 şi 5 mg/mL procentul activităţii de scavenger scade sub 50%.

Interesant este faptul că în cazul tincturilor de muşeţel, despre care am putea crede că datorită complexităţii chimice, ar avea o activitate antioxidantă mai bună decât a infuziilor, două mostre, C4 şi C9, au o activitate sub 50% chiar la concentraţii de 20 mg/mL. Mergând pentru aceste două probe la o concentraţie mai mare, de 40 mg EUC/mL am înregistrat pentru C4 o activitate egală cu 57,50 %, iar pentru C9 cu 71,42%.

De regulă, în cadrul acestor teste se apreciază în final potenţialul de acţiune antioxidant calculându-se CE$_{50}$ (concentraţia eficientă 50), care este concentraţia care neutralizează 50 % din radicalii DPPH existenţi în mediul de reacţie. În cazul probelor noastre, calculând CE$_{50}$ am obţinut rezultatele redate în acelaşi tabel II.

Ca o primă observaţie, cu câteva excepţii, concentraţia eficientă 50 a infuziilor este destul de uniformă şi apropiată de cea a tincturilor. Probele la saşet C0, C2 şi C3 au valori CE$_{50}$ destul de apropiate, în timp ce pentru tincturi, C1 şi C4, au o activitate redusă. Dintre probele vrac, conform CE$_{50}$, C6 este cea mai puternic antioxidantă, în timp ce C9 este cea mai puţin eficientă. De altfel, această apreciere a activităţii în funcţie de CE$_{50}$ merge pentru toate probele în aceeaşi direcţie, indiferent dacă este vorba de tincturi sau infuzii.

Revenind însă la capacitatea de scavenger de radicali DPPH pe care o pusesem în evidenţă pentru probele EUC şi LC realizate cu 20 mg/mL, trebuie să luăm în consideraţie faptul, că indiferent de tipul formei farmaceutice extractive (tinctură sau infuzie) în acestea, pe lângă flavonoide şi acizi polifenolici se găsesc o multitudine de alte substanţe mai mult sau mai puţin bioactive. Pentru a putea aprecia corect activitatea antioxidantă, a trebuit deci să calculăm, în miligrame, cantitatea de flavone şi acizi polifenolici corespunzătoare celor 20 mg extract uscat sau liofilizat dizolvat la mililitrul de solvent (tab. III).

Urmărind în continuare capacitatea probelor de chelatare a ionului feros, am în-

TABELUL III

Conţinutul real în flavonoide şi acizi polifenolici existent în 20 mg EUC respectiv LC

Proba	EUC		LC	
	mg flavonoide	mg acizi polifenolici	mg flavonoide	mg acizi polifenolici
C0	0,446	0,451	0,242	0,128
C1	0,940	0,940	0,290	0,092
C2	0,335	0,397	0,267	0,179
C3	0,502	0,476	0,254	0,089
C4	0,281	0,303	0,177	0,087
C5	0,327	0,477	0,221	0,091
C6	0,440	0,702	0,220	0,125
C7	0,268	0,352	0,151	0,076
C8	0,387	0,621	0,066	0,082
C9	0,234	0,257	0,126	0,047

registrat, pentru concentraţiile utilizate, valorile redate în tabelele IV şi V.

Conform metodologiei, nu se iau în considerație decât concentraţiile pentru care se obţin valori de chelatare de peste 90%, ceea ce ne obligă ca atât în cazul tincturilor cât şi a infuziilor să nu discutăm decât concentraţiile cele mai mari utilizate: 10 mg/mL pentru EUC şi 20 mg/mL pentru LC.

Înainte însă de a le discuta pe acestea, am calculat şi pentru acest test CE_{50}, înţelegând prin aceasta concentraţia de substanţă necesară pentru neutralizarea a 50 % din ionii feroşi existenţi în mediul de reacţie, deoarece abia acest parametru ne indică care sunt probele cu adevărat eficiente.

Dacă ţinem cont de valorile CE_{50} calculate pentru tincturi şi infuzii constatăm că aceasta este cea mai redusă (având deci eficienţă maximă) în *cazul martorului* Sidroga, urmată pentru tincturi de C5 şi C9, C7, C4. În cazul infuziilor, ordinea nu se păstrează, C5 având un CE_{50} egal 38,4 µg/mL (cel mai mare), urmat fiind de C1. Aceasta înseamnă, că dacă am lua doar acest aspect în discuţie, am putea considera că este mai eficientă prelucrarea materialului vegetal sub forma tincturii decât a infuziei, ceea ce ar însemna o simplificare nepermisă a problemei.

Revenind la tabelul IV, constatăm pentru 7 dintre probe (C0, C3, C4, C5, C7, C8, C9) capacităţi de chelatare a ionului feros care depăşesc 99%, doar 3 dintre ele situându-se sub acest nivel; cea mai mică capacitate de chelatare o dovedeşte EUC2 şi EUC1. Dacă însă luăm în considerare conţinutul în polifenoli existent în cele 10 mg prelucrate în probă, constatăm că C1 conţine mai bine de dublul polifenolilor din proba C2.

TABELUL IV

Activitatea de chelatare % a ionului feros de către componentele existente în EUC şi CE_{50} calculată

Proba	Tincturi (mg EUC/mL)						CE_{50} (µg/mL)
	10	5	2,5	1,25	0,625	0,3125	
C0	99.1608	97.5440	94,5222	72,0648	54,4881	35,1436	8.9
C1	94,8354	85,2915	75,6871	54,8777	39,5500	-	16.7
C2	94,4730	89,2631	84,8384	52,7635	43,0928	-	17.1
C3	99,5751	94,1274	78,4808	53,6696	42,9072	-	16.5
C4	99,4526	96,3813	93,1139	71,0812	41,3621	-	12.7
C5	99.4474	96.9709	92,7986	65,5802	49,5734	-	10.6
C6	98,4642	93,9590	86,6724	59,9147	41,0410	-	14.5
C7	99,7591	98,6823	95,8491	69,7952	47.5768	-	11.2
C8	99,2627	98,6434	94,4881	68,8225	54,7269	37,1566	8.6
C9	99,6103	97,8063	85,3368	59,5741	49,6829	-	10.6

TABELUL V

Activitatea de chelatare % a ionului feros de către componentele existente în LC şi CE_{50} calculată

Proba	Infuzii (mg LC/mL)						CE_{50} (µg/mL)
	20	10	5	2,5	1,25	0,625	
C0	97,6885	95,9350	89,0802	73,6490	61,9959	33,1102	15,6
C1	95,7181	86,2149	73,8934	56,3143	38,9340	-	32,4
C2	93,0336	90,9772	83,2935	66,1406	51,0123	40,3072	19,5
C3	95,0422	90,4990	71,1621	54,5353	45,1340	-	29,8
C4	95,7437	91,6467	81,1733	63,8132	44,3807	-	25,5
C5	93,1771	91,7902	75,3069	58,7757	46,0067	-	38,4
C6	95,1227	90,2285	83,5964	67,0014	52,5745	35,2991	18,8
C7	94,4541	92,2894	79,0053	65,8218	51,4586	31,4595	19,8
C8	93,4800	91,6786	79,8661	63,3828	51,5065	40,5600	19,0
C9	90,1004	84,3137	69,3448	52,7977	29,0273	-	25,9

Aceasta înseamnă că şi aici singura explicaţie logică ar fi aceea, că nu doar conţinutul total în flavonoide şi acizi polifenolici determină intensitatea de acţiune, ci şi natura şi raportul în care diferitele componente există în fitocomplexul extras.

În cazul infuziilor (tab.V), la utilizarea unei concentraţii de 10 mg/mL, capacitatea de chelatare se dovedeşte a fi mai redusă decât în cazul tincturilor. Acest fapt este explicabil, deoarece, pe lângă polifenoli şi alte componente eventual chelatante, apa extrage o cantitate apreciabilă de poliholozide, care cresc volumul reziduului uscat, dar nu au acţiune antioxidantă, şi care în tincturi lipsesc.

Activitatea chelatantă cea mai intensă a prezentat-o, la concentraţia luată în considerare, proba Sidroga urmată fiind de C1, C3, C4 şi C6.

Este interesant faptul că cele trei liofilizate care au prezentat cele mai mici concentraţii în polifenoli (în ordine crescătoare: C9, C7 şi C8, toate la vrac) au dovedit şi cea mai slabă acţiune de chelatare a ionului feros. Ca şi la tincturi, şi la infuzii nu constatăm o totală corelare între conţinutul în polifenoli şi cea de chelatare, o excepţie în acest sens făcând-o proba C2, care la cel mai mare conţinut în astfel de substanţe are o activitate redusă, de unde deducem importanţa spectrului flavonoidelor existente în produs, pentru dezvoltarea unei anumite acţiuni.

CONCLUZII

Urmărind acţiunea antioxidantă a două forme extractive (tinctură şi infuzie) preparate din 9 probe de muşeţel comercializat în 2005 prin reţeaua farmaceutică din România, am constatat că între materialul vegetal există diferenţe calitative şi cantitative, cele din urmă reflectându-se şi în conţinutul în flavonoide şi acizi polifenolcarboxilici antioxidanţi.

Determinând pentru tincturi şi infuzii (aduse la stadiul de extract uscat/liofilizat) capacitatea de scavenger faţă de radicalii DPPH, am stabilit că la concentraţii de 20 mg/ml, infuziile par a veni cu un efect antioxidant absolut comparabil, dacă nu uşor mai mare decât a tincturilor, în timp ce activitatea de chelatare a ionului feros este mai mare la tincturi decât la infuzii.

Încercând să corelăm aceste observaţii cu conţinutul în flavonoide şi acizi polifenolcarboxilici, constatăm că în tincturi, concentraţia este evident mai mare, decât în infuzii, dar calităţile de scavenger par a nu depinde doar de aceste componente existente în extract.

În schimb, capacitatea de chelatare a ionului feros pare să fie în concordanţă cu conţinutul în polifenoli chelatanţi.

BIBLIOGRAFIE

1. Franke R, Schilcher H. *Chamomile Industrial Profiles*. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis, 2005.
2. Barnes J, Anderson LA, Phillipson DJ. *Herbal Medicines*. IInd ed. London: Pharmaceutical Press, 2002.
3. *** - *Farmacopeea Europeană*. ediţia a V-a. Strasbourg: EDQM, 2005.
4. *** - *Farmacopeea Română*. ediţia a X-a. Bucureşti: Ed. Medicală, 1993.
5. Malterud KE, Farbrot TL, Huse AE, Sund RB. Antioxidant and radical-scavenging effects of anthraquinones and anthrones. *Pharmacol* 1993; 47: 77-85.
6. Wangensteen H, Samuelsen AB, Malterud KE. Antioxidant activity in extracts from coriander. *Food Chem* 2004; 88: 293-297.
7. Perez CA, Wei Y, Guo M. Iron-binding and anti-Fenton properties of baicalein and baicalin, *J Inorg Biochem* 2009; 103 (3): 326-332.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

CONTRIBUŢII LA STUDIUL VARIABILITĂŢII CHIMICE A UNOR POPULAŢII DE *GALIUM ALBUM* MILL. RECOLTATE DIN FLORA SPONTANĂ DIN NORDUL MOLDOVEI

Anca Hemcinschi[1], Elvira Gille[2], Adriana Trifan[1], Radu Necula[2], Ursula Stănescu[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Farmacie
1. Disciplina de Farmacognozie
2. Centrul de Cercetări Biologice "Stejarul" Piatra Neamţ

CONTRIBUTIONS TO THE STUDY OF THE CHEMICAL VARIABILITY OF SOME *GALIUM ALBUM* MILL. POPULATIONS HARVESTED FROM WILD FLORA FROM THE NORTHERN MOLDAVIA (Abstract): Within a complex research regarding the chemical intra- and inter-specific variability of some medicinal plants, we compared two species of *Galium*: *Galium verum* L. and *Galium album* Mill. **Aim**: In the present study, we quantified some secondary metabolites from 7 natural populations of *Galium album* Mill., harvested from Suceava and Neamţ districts, during july 2008. **Material and methods**: The chemical investigations used TLC, UV-VIS spectrophotometry and HPLC, in order to analyze the composition in iridoids, flavones and polyphenolic acids. **Results**: Our study revealed the existence of important chemical variations between the different populations (Râşca, Crucea/Borca, Runc, Târzia1). Meanwhile the harvesting moment within the vegetative cycle plays a major role for the further quality of the product. **Key words**: *GALIUM ALBUM* MILL., CHEMICAL VARIABILITY, IRIDOIDS, POLYPHENOLS, HPLC-ANALYSIS

Genul *Galium* conţine aproximativ 300 de specii, răspândite pe tot globul, dintre care, în flora României se regăsesc 28 de specii şi 4 hibrizi (1).

Sunt plante perene, rareori anuale, cu frunze opuse, ovale, până la liniare. Între frunze sunt dispuse 1-4 stipele de aceeaşi formă, ceea ce le conferă aspectul de verticil constituit din 4-10 piese. Tulpina, mai mult sau mai puţin tetraedică, prezintă uneori peri în treimea superioară. Florile sunt grupate în panicule.

Specia *Galium album* Mill. este considerată ca fiind medicinală, având proprietăţi astringente şi vulnerare, fiind utilizată ca diuretic, diaforetic, spasmolitic (2) sub forma infuziilor, iar la noi în ţară şi sub forma tincturilor în diminuarea dimensiunilor nodulilor tiroidieni. Produsul vegetal, *Galii herba*, se caracterizează prin gust amar şi conţine derivaţi flavonici, acizi polifenolici şi iridoide.

În cadrul unor cercetări în care ne-am propus urmărirea variabilităţii chimice intraspecifice şi respectiv influenţa momentului de recoltare la o serie de plante medicinale din flora spontană (3,4), am luat în studiu partea aeriană înflorită, *Galii herba*, recoltată în iulie 2008 din diferite locaţii ale judeţelor Neamţ şi Suceava.

Pentru populaţiile naturale de *Galium album* Mill. incluse în studiul nostru am urmărit bioacumularea unor metaboliţi secundari, şi anume: iridoide, flavonoide şi acizi polifenolici de tip acid clorogenic.

Totodată am încercat să urmărim influenţa pe care o pot avea asupra bioacumulării:

- variabilitatea chimică intraspecifică,
- influenţa parametrilor de climă şi sol asupra sintezei de metaboliţi secundari în plantă,
- influenţa momentului de recoltare.

Determinările chimice au apelat la metode de analiză cromatografică în strat subţire, la dozări spectrofotometrice şi analiză HPLC.

MATERIAL ŞI METODĂ

Materialul vegetal, constituit din partea aeriană înflorită, recoltată de la şapte populaţii naturale de *Galium album* Mill. în luna iulie 2008 (identificate în două judeţe din nordul Moldovei, tabelul I), a fost uscat la temperatura camerei şi extras cu metanol, la cald, până la epuizare (DER=0,5 : 100 g/mL). Suplimentar, pentru una din locaţii (Spătăreşti) la începutul lunii august 2008 s-au recoltat exemplare de sânziene albe fructificate, pentru a urmări influenţa momentului de recoltare asupra compoziţiei chimice.

Epuizatele metanolice au fost prelucrate prin cromatografie pe strat subţire (5) şi au servit la dozarea iridoidelor, flavonelor şi acizilor polifenolici precum şi la determinarea semicantitativă prin HPLC a unor flavonoide şi a acidului clorogenic existente în materialul vegetal.

Analiza cromatografică pe strat subţire s-a realizat în vederea identificării asemănărilor/deosebirilor de spectru polifenolic, dar mai ales iridoidic.

Apelând la metode spectrofotometrice, epuizatele realizate din cele 8 probe de *Galium album* Mill. au fost analizate în următoarele condiţii de lucru: determinarea cantitativă a iridoidelor s-a bazat pe reacţia acestora cu PABA în mediu acid, când se formează la cald un compus colorat în albastru, colorimetrabil la λ = 590 nm, curba etalon fiind realizată cu aucubozidă ca martor extern, în lipsa unui etalon mai apropiat (asperulozida) (6,7).

Flavonoidele au fost determinate cantitativ în baza capacităţii acestora de a forma cu Al^{3+} complecşi interni, intens coloraţi în galben, care au fost spectrofotometraţi la λ = 430 nm, utilizând ca etalon rutozida (8).

Dozarea acizilor polifenolici s-a realizat prin tratarea unor cote parte epuizatele metanolice cu acid fosfowolframic în mediu alcalin, când s-au obţinut coloraţii albastre care au fost colorimetrate la λ = 660 nm, etalonul folosit fiind acidul clorogenic (4).

Determinările semicantitative prin HPLC au fost realizate în următoarele condiţii: sistem HPLC Agilent 1100, cu înregistrarea şi integrarea cromatogramelor prin sistemul computerizat Borwin şi detector multidiode; faza staţionară: Zorbax Eclipse XDB-C18 (150 mm x 4,6 mm; 5 mm); fFaza mobilă: componenta A = acetat de sodiu 2 mM adus la pH = 2,5 cu acid acetic; componenta B = acetonitril; gradient: 98% A : 2% B (0-20 min.); 86%A : 14%B (20-40 min.); 80%A : 20% B (40-50

TABELUL I
Provenienţa probelor analizate

Cod proba	Provenienţa	Data recoltării	Stadiul de vegetaţie
GA8	Runc	3.07.08	înflorire
GA9	Spătăreşti A	2.07.08	înflorire
GA10	Spătăreşti B	3.08.08	fructificare
GA11	Râşca	2.07.08	înflorire
GA12	Rădăşeni	2.07.08	înflorire
GA13	Târzia1	2.07.08	înflorire
GA14	Potoci/Frasin	3.07.08	înflorire
GA15	Crucea/Borca	3.07.08	înflorire

min.) ; 70%A : 30%B (50-60 min.) ; 75%A : 25%B (60-65 min.) ; 98%A : 2%B (după 65 min.) ; debit : 1 mL/min ; presiune : 174-175 Mpa ; temperatura în compartimentul coloanei 25°C ; detecţie : UV 320 nm pentru probe şi etaloane ; suplimentar pentru fiecare etalon s-a înregistrat spectrul de absorbţie în intervalul 200-400 nm ; volumul aplicat : 10 μL pentru soluţii de analizat şi standard.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

În urma analizei cromatografice, am constatat că între probe există diferenţe nu atât calitative în ceea ce priveşte spectrul compuşilor polifenolici, cât mai ales cantitative.

Urmărind mai îndeaproape imaginile cromatografice obţinute pentru iridoide (fig. 1), constatăm existenţa atât a unor diferenţe, cât şi a unor asemănări între populaţiile de sânziene albe cercetate.

În figura 1 constatăm că dintre etaloanele pentru iridoide aplicate, aucubozidă şi extract de *Harpagophytum*, produsul nostru nu conţine niciunul, fapt care este în absolută concordanţă cu literatura de specialitate. Dacă noi am aplicat aceste substanţe ca martori, le-am considerat de fapt ca etaloane externe, nestându-ne la dispoziţie nicio monoterpenă de tip iridoid din cele identificate până în prezent în *Galium*.

După cum reiese din imagine, probele de *Galium album* prezintă un spectru larg de iridoide, caracterizate la derivatizarea printr-o coloraţie a spotului care merge de la violaceu la albastru-mov. La 2 dintre probe (GA 4 şi GA 8) constatăm prezenţa în zona Rf=0,05-0,60 a 5 spoturi iridoidice, în timp ce pentru celelalte, doar 4 sunt mai evidente. La Rf-ul aproximativ 0,5 pentru cele două probe menţionate apare un spot iridoidic evident, colorat în mov, care însă pentru celelalte probe este galben-portocaliu. Având în vedere că dependent de structură, iridoidele derivatizate cu anisaldehidă, pot da şi spoturi de altă culoare (de la galben la portocaliu, la brun şi până la negru) presupunem că şi acesta trebuie pus pe seama unui astfel de derivat. În orice caz, pentru toate probele, 3 compuşi sunt cantitativ bine reprezentaţi.

În urma realizării determinărilor cantitative pentru flavonoide, acizi polifenolici şi iridoide în probele de sânziene galbele şi albe studiate în anul 2008 am obţinut valorile inserate în tabelul II.

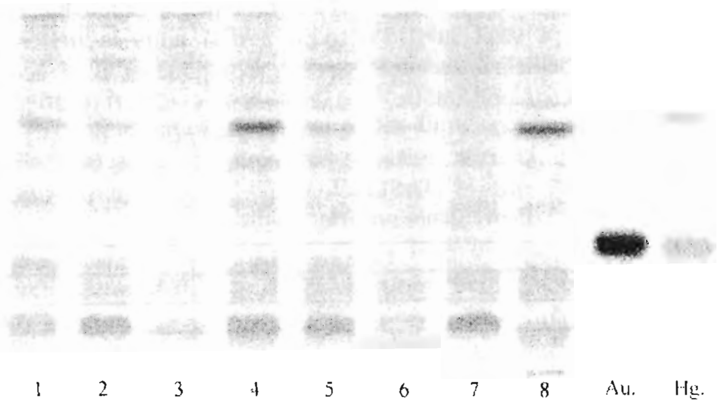


Fig. 1. Cromatograma pe strat subţire pentru iridoide obţinută cu extractele de *Galium album* (2008). Probe : 1=Runc ; 2=Spătăreşti A ; 3=Spătăreşti B ; 4=Râşca ; 5=Rădăşeni ; 6= Târzia 1 ; 7=Potoci / Frasin ; 8=Crucea / Borca ; Etaloane : Au=aucubozida ; Hg=extract din *Harpagophytum procumbens*

TABELUL II

Conţinutul în iridoide, flavone şi acizi polifenolici determinat în materialul vegetal (*Galium album* Mill.) prelevat de la diverse populaţii în anul 2008

Cod probă	Provenienţa	Determinat în 100 g *herba*		
		Iridoide (g aucubozidă)	**Flavone** (g rutozidă)	**Acizi polifenolici** (g acid clorogenic)
GA8	Runc	0,257	1,391	1,929
GA9	Spătăreşti A(02.07)	0,338	2,030	1,848
GA10	Spătăreşti B(03.08)	0,131	1,738	1,547
GA11	Râşca	0,648	1.043	1,777
GA12	Rădăşeni	0,319	2,289	1,2120
GA13	Târzia 1	0,233	1,154	1,271
GA14	Potoci/Frasin	0,329	2,366	2,050
GA15	Crucea/Borca	0,510	0,691	1,783

Urmărind variabilitatea chimică intraspecifică la *Galium album* Mill. constatăm că aceasta este prezentă pentru fiecare fracţiune urmărită în parte : dacă în cazul iridoidelor, pentru materialul vegetal prelevat la începutul lunii iulie, când plantele erau complet înflorite, conţinutul variază între 0,233 (Târzia1) şi 0,648 g/100g *herba* (Râşca), pentru flavone, indivizii de la Crucea/Borca s-au dovedit a nu depăşi 0,691 g%, comparativ cu cei de la Potoci/Frasin, care conţin de 3 ori mai mulţi derivaţi flavonoidici (2,366g%). În ceea ce priveşte conţinutul în acizi polifenolcarboxilici (APFC), populaţia de Potoci/Frasin s-a dovedit a fi din nou cea mai bogată, pentru ca cea mai săracă să fie reprezentată de proba de la Rădăşeni.

Este evident că pentru specia *Galium album* Mill. există o variabilitate intraspecifică importantă în ceea ce priveşte conţinutul în metaboliţi secundari terapeutic relevanţi şi care ţine de oferta pedo-climatică.

Totodată este evident că momentul prelevării materialului vegetal este important pentru calitatea farmaceutică a acestuia, dacă urmărim nivelul celor 3 grupe de metaboliţi secundari la proba Spătăreşti A (recoltată în iulie) şi Spătăreşti B (august), nivelul principiilor active scăzând odată cu fructificarea.

Trecând la analiza HPLC pentru polifenolii existenţi în epuizatele metanolice, am înregistrat rezultatele redate în tabelul III.

Examinând conţinutul în diversele flavonoide, precum şi în acid clorogenic, constatăm din nou pentru cele 7 populaţii de *Galium album* Mill. existenţa unei variabilităţi chimice, de data aceasta exprimată chiar în interiorul unei anumite fracţiuni.

Dacă la dozarea spectrofotometrică proba de la Potoci se remarcase prin cel mai

TABELUL III

Conţinutul în flavonoide şi acid clorogenic determinat prin HPLC în epuizatele metanolice, realizate din probele *Galium album* Mill.

Cod probă	Proba	mg/100g material vegetal				
		Acid clorogenic	**Rutozida**	**Luteolin-7-glucozida**	**Luteolina**	**Total flavonoide**
GA8	Runc	598.60	41,33	24,96	0,30	66,59
GA9	SpătăreştiA	483,13	111,06	15,69	1,04	127,79
GA10	SpătăreştiB	335,41	112,27	38,82	1,80	152,89
GA11	Râşca	530,37	43,91	59,90	-	103,81
GA12	Rădăşeni	550,32	136,18	17,82	1,59	155,59
GA13	Târzia1	226,11	71,90	12,60	0,93	85,43
GA14	Potoci/Frasin	435,42	171,04	189,44	2,83	363,31
GA15	Crucea/Borca	492,60	20,99	25,87	-	46,86

înalt (2,366g%), iar cel de la Tărzia1 prin cel mai scăzut (1,154g%) conţinut în flavonoide, vedem că pentru prima, rutozida, luteolin-7-glucozida şi luteolina sunt în cantităţi mari, în timp ce pentru Tărzia1, valorile înregistrate sunt scăzute.

În cazul acidului clorogenic, conţinutul maxim îl regăsim la proba Runc, bogată în APFC; la indivizii de Rădăşeni menţionaţi anterior ca fiind cei mai săraci în astfel de compuşi, constatăm că aproape jumătate din cele 1,212g% sunt reprezentate de acidul clorogenic (550,32mg%).

CONCLUZII

Determinările cantitative au dovedit, pentru sânzienele albe, existenţa unei variabilităţi chimice intraspecifice, evidentă pentru metaboliţi secundari cum ar fi iridoidele, flavonele şi acizii polifenolici. Totodată, momentul din cadrul ciclului vegetativ în care se face recoltarea părţii aeriene la *Galium album* Mill. este extrem de important pentru calitatea materialului vegetal.

Pentru a putea stabili interdependenţe clare în ceea ce priveşte variaţiile cantitative în principii active, s-ar impune realizarea unor studii multianuale (cu prelevarea constantă a indivizilor din aceleaşi locaţii) cu monitorizarea concomitentă atât a condiţiilor climatice din fiecare an cât şi a compoziţiei solului.

BIBLIOGRAFIE

1. Păucă A, Nyárády EI. Rubiaceae. In: *Flora R. P. Române*. Bucureşti: Ed. Academiei Române, 1961, 524-589.
2. Perrot E, Paris R. *Les plantes médicinales*. Paris: Edit. Presses Universitares de France, 1971.
3. Hemcinschi A, Gille E, Necula R, Dănilă D, Trifan A, Stănescu U. Chemical variability of some natural populations of *Ajuga sp*. from the north-eastern part of Romania. *Planta Med* 2009; 75: 931.
4. Hemcinschi A, Trifan A, Cioanca O, Gille E, Stănescu U. Contribuţii la studiul fitochimic a şapte populaţii de *Galium verum* L. recoltate din flora spontană din nordul Moldovei. Simpozionul Medicamentul - de la concepere până la utilizare, ed. a-II-a, Iaşi, 20-22 mai. *Rev Med Chir Soc Med Nat* 2009; 113 (2) supl. 4: 195-200.
5. Wagner H, Bladt S. *Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas*, ed. a II-a. Berlin: Springer Verlag, 1996.
6. Adam KP, Becker H. *Analytik biogener Azneistoffe*. Stuttgart: Wiss. Verlagsges.mbH, 2000.
7. Miron A. *Contribuţii privind studiul farmacognostic şi biologic al unor componente macromoleculare glucidice separate din unele specii vegetale indigene*. UMF "Gr. T. Popa" Iaşi, Teză de doctorat, 1997.
8. *** *Farmacopeea Română*, ed. a X-a. Bucureşti: Ed. Medicală, 1993.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

FARMACIE **ARTICOLE ORIGINALE**

DATE COMPARATIVE PRIVIND DOUĂ METODE DE DETERMINARE PRIN HPLC A ISONIAZIDEI

Daniela Gârbuleţ[1,2], A.F. Şpac[1], V. Dorneanu[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Farmacie
1. Disciplina Chimie analitică
2. S.C. Sandoz S.R.L. Târgu Mureş

COMPARATIVE DATA REGARDING TWO HPLC METHODS FOR DETERMINATION OF ISONIASIDE (Abstract): For the determination of isoniazide (isonicotinic acid hydrazide – HIN) two different HPLC methods were developed and validated. **Methods**: Both experiments were performed using a Waters 2695 liquid chromatograph and a UV – Waters 2489 detector. The first method (I) used a Nucleosil 100-10 C18 column (250 x 4.6 mm), a mobile phase formed by a mixture of acetonitrile/10^{-2} M oxalic acid (80/20) and a flow of 1.5 mL/min; detection was done at 230 nm. The second method (II) used a Luna 100-5 C18 column (250 x 4.6 mm), a mobile phase formed by a mixture of methanol/acetate buffer, pH=5.0 (20/80), a flow of 1 mL/min; detection was done at 270 nm. **Results**: Both methods were validated, the correlation coefficients were 0.9998 (I) and 0.9999 (II), the detection limits were 0.6 µg/mL (I) and 0.055 µg/mL (II), the quantitation limits were 1.9 µg/mL (I) and 0.2 µg/mL (II). There were also studied: the system precision (RSD = 0.1692% (I) and 0.2000% (II)), the method precision (RSD = 1.1844% (I) and 0.6170% (II)) and the intermediate precision (RSD = 1.8058% (I) and 0.5970% (II)). The accuracy was good, the calculated recoveries were 102.66% (I) and 101.36 (II). **Conclusions**: Both validated methods were applied for HIN determination from tablets with good and comparable results. **Key words**: ISONIASIDE, HPLC, VALIDATION

Tuberculoza este o afecţiune de natură infecţioasă, determinată de o bacterie denumită *Mycobacterium tuberculosis*. Această bacterie se poate localiza în orice parte a corpului, însă de obicei atacă plămânii. Pentru tratarea acestei afecţiuni, printre alte substanţe, se foloseşte şi isoniazida (hidrazida acidului nicotinic – HIN). Având în vedere rolul important în terapeutică al acestei substanţe, au fost dezvoltate, validate şi aplicate în practică două metode de separare şi determinare cantitativă din comprimate.

MATERIAL ŞI METODĂ

Metoda I: Soluţii conţinând isoniazidă în domeniul de concentraţie 2 – 250 µg/mL au fost separate pe o coloană Nucleosil 100-10 C18 (250 x 4,6 mm), faza mobilă fiind formată din amestec acetonitril / acid oxalic 10^{-2} M (80/20) cu un debit de 1,5 mL/min. Detecţia a fost realizată la o lungime de undă de 230 nm (1).

Metoda II: Soluţii conţinând isoniazidă în domeniul de concentraţie 0,5 – 300 ěg/mL au fost analizate pe o coloană Luna 100-5 C18 (250 x 4,6 mm) cu o fază mobilă formată din amestec metanol / tampon acetat pH = 5,0 (în raport volumic de 20/80) la un debit de 1 mL/min. Detecţia s-a realizat la 270 nm.

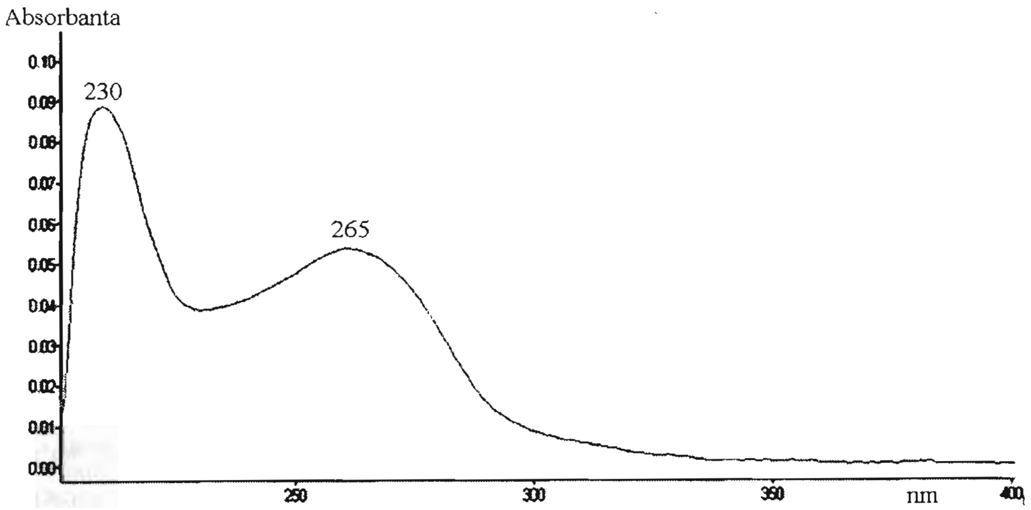


Fig. 1. Spectrul de absorbţie al isoniazidei în acetonitril/acid oxalic 10^{-2} **M (80/20)**

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Stabilirea lungimii de undă de detecţie

Pentru stabilirea lungimii de undă de detecţie, s-a procedat după cum urmează:

- metoda I: s-a înregistrat spectrul de absorbţie (fig. 1) al isoniazidei dizolvate în faza mobilă (acetonitril/acid oxalic 10^{-2} M în raport de 80/20). Din spectrul de absorbţie se observă un maxim la lungimea de undă de 230 nm şi unul la 265 nm. S-a ales valoarea de 230 nm deoarece, la această valoare, sensibilitatea este mai mare.
- metoda II: s-a înregistrat spectrul de absorbţie (fig. 2) al isoniazidei dizolvate în tampon acetat pH = 5,0. Din spectrul de absorbţie se observă un maxim la lungimea de undă de 270 nm.

Cele două metode dezvoltate au fost validate conform cerinţelor actuale (2-9), urmărindu-se liniaritatea, limita de detecţie şi limita de cuantificare, precizia sistemului, precizia metodei, precizia intermediară şi acurateţea. Datele experimentale obţinute sunt redate în tabelul I.

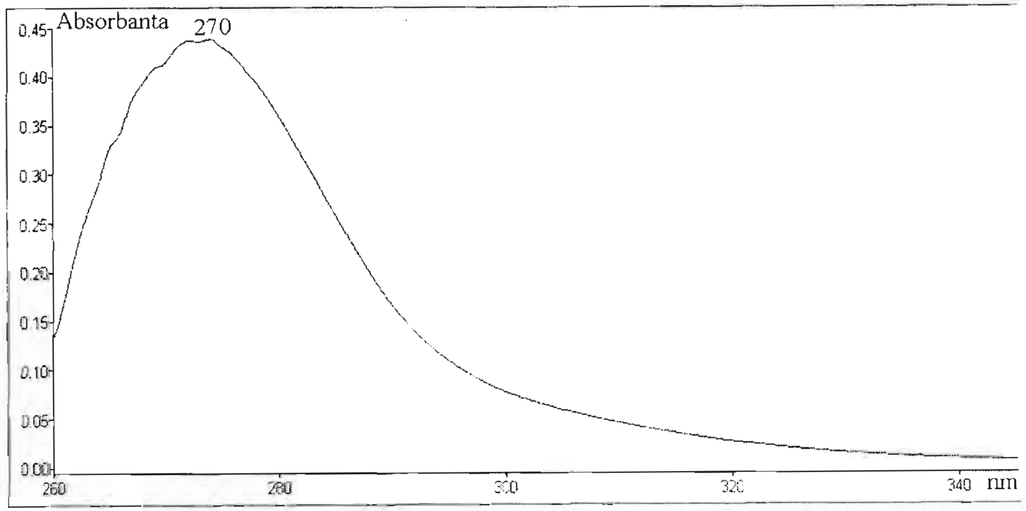


Fig. 2. Spectrul de absorbţie al isoniazidei în tampon acetat pH = 5,0

TABELUL I

Date comparative privind validarea celor două metode de determinare a isoniazidei prin cromatografie de lichide de înaltă performanţă

Parametru urmărit		**Metoda I**	**Metoda II**
Liniaritatea	Domeniu de concentraţie (µg/mL)	2 – 250	0,5 – 300
	Pantă	13073,097	19907,276
	Intercept	-2195,92	-37562,94
	Coeficient de corelaţie	0,9998	0,9999
Limită de detecţie	µg/mL	0,60	0,05
Limită de cuantificare	µg/mL	1,90	0,2
Precizia	Precizie sistem RSD (%)	0,1692	0,2000
	Precizie metodă RSD (%)	1,1844	0,6170
	Precizie intermediară RSD (%)	1,8058	0,5970
Acurateţea	Regăsire medie (%)	102,66	101,36
	Regăsire minimă (%)	101,30	99,90
	Regăsire maximă (%)	104,46	102,42

TABELUL II

Rezultatele obţinute pentru comprimate de isoniazidă de 100 mg

Nr. probei	**mg isoniazidă/cp Metoda I**	**% isoniazidă/cp Metoda I**	**mg isoniazidă/cp Metoda II**	**% isoniazidă/cp Metoda II**
1	99,86	99,86	99,67	99.67
2	99,49	99,49	99,82	99,82
3	99,12	99,12	99,49	99,49
4	99,56	99,56	99,50	99,50
5	98,46	98,46	100,32	100,32
6	99,80	99,80	99,94	99,94
Media	99,38	99,38	99,79	99,79
SD	0,55	0,55	0,31	0,31
RSD (%)	0,54	0,54	0,31	0,31

TABELUL III

Rezultatele obţinute pentru comprimate de isoniazidă de 300 mg

Nr. probei	**mg isoniazidă/cp Metoda I**	**% isoniazidă/cp Metoda I**	**mg isoniazidă/cp Metoda II**	**% isoniazidă/cp Metoda II**
1	298,53	99,50	300,21	99,93
2	301,20	100,40	296,32	98,77
3	299,40	99,81	300,31	100,10
4	298,53	99,51	292,41	97,47
5	301,20	100,40	298,51	99,50
6	299,40	99,84	298,78	99,58
Media	299,71	99,81	295,75	99,04
SD	0,48	0,36	1,33	1,03
RSD (%)	0,48	0,36	1,33	1,02

Aşa cum se observă din datele prezentate în tabelul I, cele două metode sunt comparabile, cu excepţia limitei de detecţie respectiv a limitei de cuantificare, metoda II fiind mult mai sensibilă.

Cele două metode dezvoltate şi validate, au fost utilizate în practică pentru determinarea cantitativă a isoniazidei din comprimate de 100 mg şi respectiv 300 mg.

În tabelele II şi III sunt prezentate rezultatele obţinute prin cele două metode, atât pentru comprimate de isoniazidă de 100 mg, cât şi pentru cele de 300 mg. Aşa cum se poate observa, rezultatele sunt comparative, cu o variaţie a rezultatelor de 1,02 în cazul comprimatelor de 100 mg, respectiv - 0,99 în cazul comprimatelor de isoniazidă de 300 mg. În ambele cazuri (metoda I, respectiv metoda II), şi pentru ambele concentraţii (100 mg şi 300 mg), valoarea RSD pentru concentraţiile procentuale, precum şi mg/comprimat este mai mică de 2%. Ambele metode pot fi utilizate pentru analiza cantitativă a isoniazidei din forme farmaceutice orale, cu rezultate foarte bune şi comparabile (limitele admise de specificaţiile de calitate = 95 - 105%)

CONCLUZII

Cele două metode de determinare cantitativă a isoniazidei dezvoltate au fost validate, rezultatele experimentale obţinute fiind în concordanţă cu cerinţele actuale. De asemenea, cele două metode au fost aplicate în practică pentru determinarea isoniazidei din comprimate de 100 şi respectiv, 300 mg. Rezultatele experimentale obţinute se încadrează în specificaţiile de calitate prevăzute de Farmacopeea Română, ed. X-a.

BIBLIOGRAFIE

1. Gârbuleţ D, Şpac AF, Dorneanu V. Determinarea isoniazidei şi rifampicinei prin HPLC. Validarea metodei. *Clujul Medical* 2009 ; 82 (3) : 429-432.
2. *** *Farmacopea Română*, ed. a X-a. Bucureşti : Ed. Medicală, 1993.
3. *** *European Pharmacopoeia*, 5 ed. Strassbourg : Maisonneuve S.A., 2005.
4. Green JM. A practical guide to analytical method validation. *Anal Chem News & Features* 1996 ; 305A-309A,.
5. Kirsch RB. Validation of analytical methods used in pharmaceutical cleaning assesment and validation. *Analytical Validation in the Pharmaceutical Industry* 1998 ; 40-46.
6. ***ICH Guideline. *Validation of Analytical Procedures* : Methodology, Recommended for Adoption of Step 4 of the ICH Process on 6 November 1996 by the ICH Steering Committee.
7. ***ICH Harmonized Tripartite Guideline. *Validation of Analytical Procedures.*Text and Methodology, Q2(R1), November 2005.
8. Roman L, Bojiţă M, Săndulescu R. *Validarea metodelor de analiză şi control. Bazele teoretice şi practice*. Bucureşti : Ed. Medicală, 1998.
9. Swartz EM, Kwh I. Method validation and robustness. *LCGC North America* 2006 ; 24 (5) : 480-490.

NOUTĂŢI

SHBG(SEX HORMONE-BINDING GLOBULIN) ŞI RISCUL DZ TIP 2

Nivelurile SHBG (sex hormone-binding globulin) circulant se asociază cu insulino-rezistenţa, însă nu este clar dacă aceste valori pot prezice riscul de a dezvolta diabet zaharat tip 2. Un studiu caz-control realizat pe 359 femei diagnosticate cu DZ tip 2 şi 359 femei fără DZ, la care s-au măsurat concentraţiile plasmatice ale SHBG, în paralel cu genotiparea SHBG, a demonstrat că niveluri crescute ale SHBG se asociază cu un risc scăzut de apariţie a DZ tip 2, în timp ce o concentraţie plasmatică redusă a SHBG reprezintă un factor predictiv puternic pentru riscul de apariţie a DZ tip 2 (Ding EL, Song Y, Manson JAE et al. Sex hormone-binding globulin and risk of type 2 diabetes in women and men. *NEJM* 2009 ; 361 : 1152-1163).

Teodora Vremera

METODE DE MANAGEMENT AL DATELOR CLINICE ÎNTR-UN SISTEM INTEGRAT DE MONITORIZARE LA DISTANŢĂ

E. Bautu[1], A. Bautu [2], R. Ciorap[3], V.M. Pomazan[1], L.C. Petcu[1]
1. Universitatea "Ovidius" Constanţa
2. Academia Navală "Mircea cel Bătrân" Constanţa
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
2. Facultatea de Bioinginerie medicală

DESIGN CONSIDERATIONS FOR CLINICAL DATA MANAGEMENT IN AN INTEGRATED REMOTE MEDICAL SYSTEM (Abstract) : In this paper, we present a proposal for the design of a telemedicine system. The system (called SIMPA) will be used for non-invasive monitoring of some vital parameters of patients with chronic diseases. **Material and methods** : The telemedicine system contains a fixed unit and some mobile units. The mobile unit contains various sensors used to gather data about vital biosignals, a transceiver and a medical processor. On the fixed unit side, the host transceiver must be compatible with the mobile transceiver. On the server side, an application analyzes and processes the data and further stores it in dedicated databases. **Results** : The database support for the telemedicine application is ensured by open source technologies and already available communication infrastructures (GSM networks). The requirements for the application were thoroughly analyzed and the Entity-Relationship diagram of the system was designed and translated into relational model. SIMPA will be implemented using only free and open source technologies, which will ensure a low cost and improved extensibility and portability. **Conclusion** : We presented some design considerations for a low-cost telemedicine system. The system will help optimize medical decisions and will increase the quality of the medical act and lower the cost, to the ultimate benefit of the patient. **Key words**: TELEMEDICINE, E-HEALTH, DATABASE DESIGN, OPEN SOURCE SOFTWARE

Telemedicina este larg definită ca utilizarea de infrastructuri de telecomunicaţii pentru a oferi informaţii medicale şi de sănătate la distanţă. Telemedicina mobilă este un domeniu nou apărut, de integrare de comunicaţii telemedicale fără fir pentru diferite aplicaţii (1). Noţiunea acoperă o gamă mult mai largă decât echiparea unei persoane cu un telefon mobil, deoarece aceasta implică în mod egal utilizarea vehiculelor care circulă rapid, care sunt echipate cu sisteme de telecomunicaţii de fără fir înaltă calitate, pentru a asista pacienţii în regiuni greu accesibile sau zone în dezastru. Diverse proiecte de astăzi testează potenţialul de monitorizare de la distanţă, folosind o legătură fără fir între medicul din spital şi paramedicul din ambulanţă, în timp ce pacientul este transportat de la casa lui la clinica de specialitate.

Lucrarea de faţă prezintă o parte din rezultatele etapei 3 a proiectului de cercetare PNCDI-II 11-070/2007 intitulat "Soluţie integrată e-health de monitorizare a parametrilor vitali la pacienţii cu afecţiuni cronice - SIMPA".

MATERIAL ŞI METODĂ

Structura generală a unui sistem telemedical (2) este prezentată în figura 1. În

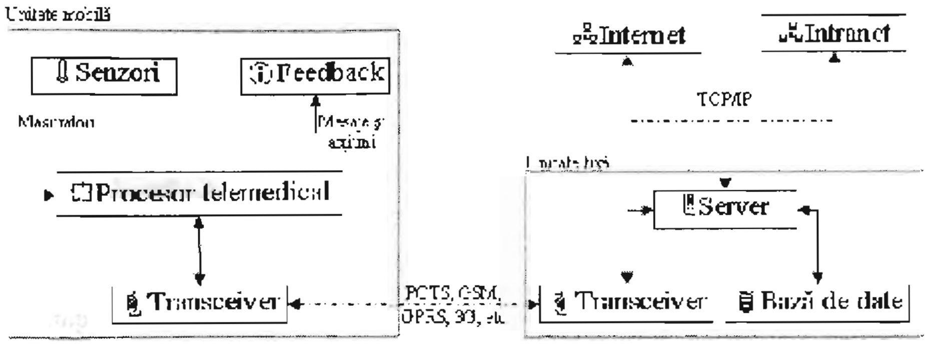

Unitate mobilă
Senzori
Feedback
Măsurători
Mesaje și acțiuni
Procesor telemedical
Transceiver
PCTS, GSM, GPRS, 3G, etc.
Internet
Intranet
TCP/IP
Unitate fixă
Server
Transceiver
Bază de date

Fig. 1. Structura generală a unui sistem telemedical

principiu, sistemul este alcătuit dintr-o rețea de unități mobile folosite pentru monitorizarea pacienților și (una sau mai multe) unități fixe folosite pentru stocarea și prelucrarea datelor. Componentele sistemului de telemedicină includ o unitate mobilă pentru achiziția de semnale (date biometrice) de la pacienți prin intermediul senzorilor și a dispozitivelor periferice. Dintre periferice pot face parte și camere digitale pentru achiziția de imagini digitale sau capturi video. Datele sunt achiziționate, stocate și transmise cu acuratețe. Unitatea de procesare este compusa din computere de complexități diferite. Modulul de comunicații folosește tehnologii GSM, satelit, Internet, WAN, PAN.

Fiecare unitate mobilă conține următoarele module :

- senzori folosiți pentru măsurarea parametrilor pacientului (glicemie, tensiune etc.) ;
- sistem de feedback folosit pentru prezentarea în formă textuală sau codificată a stării pacientului, a sistemului și pentru feedback din partea experților ; în această categorie intră și echipamentele folosite pentru intervenții asupra pacientului ;
- tranceiver (i.e. emițător-receptor) permite transmiterea și recepționarea de informații între unitățile mobile și unitâți fixe
- procesorul telemedical controlează activitatea celorlalte componente ; el poate fi un dispozitiv dedicat acestei sarcini sau un sistem de calcul general (e.g. desktop PC, laptop etc.) cu software corespunzător.

Unitățile fixe conțin în general următoarele module :

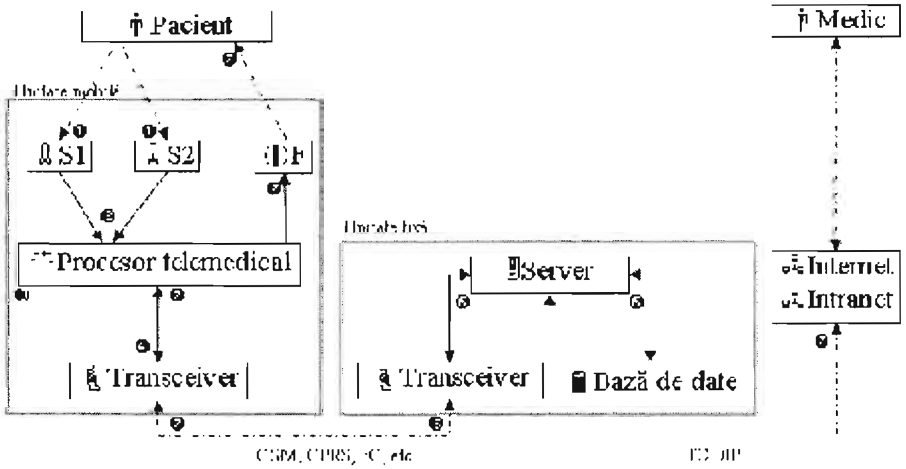

Pacient
Unitate mobilă
S1
S2
F
Procesor telemedical
Transceiver
Unitate fixă
Server
Transceiver
Bază de date
Medic
Internet
Intranet
GSM, GPRS, 3G, etc
TCP/IP

Fig. 2. Fluxul de informație în sistemul SIMPA

- tranceiver (i.e. emițător-receptor) compatibil cu cel folosit de către unitățile mobile, eventual cu performanțe superioare pentru a putea interacționa simultan cu mai multe unități mobile ;
- server cu software specializat utilizat pentru procesarea informaților primite și, opțional, stocarea acestora în baze de date sau zone de lucru temporare

Figura 2 prezintă fluxul de informație în sistemul SIMPA. Comunicația între dispozitivul mobil si nodul central este periodică, la intervale de timp mari (ore sau zile). Comunicația are loc prin interfață Ethernet în primă etapă, putând fi ulterior înlocuită cu comunicație wireless. Datele vor fi memorate de dispozitivul mobil în format text. În momentul în care este necesară o sesiune de comunicație între dispozitivul mobil și nodul central, se va realiza o conexiune de tip FTP între cele două dispozitive prin care se vor transfera datele. Datele transmise de dispozitivul mobil către nodul central reprezintă valori ale unor biosemnale, cum ar fi glicemia, tensiunea arterială, body composition (care vor fi prelevate ca valori, la intervale de câteva ore), saturația în oxigen sau ritmul cardiac (pre-

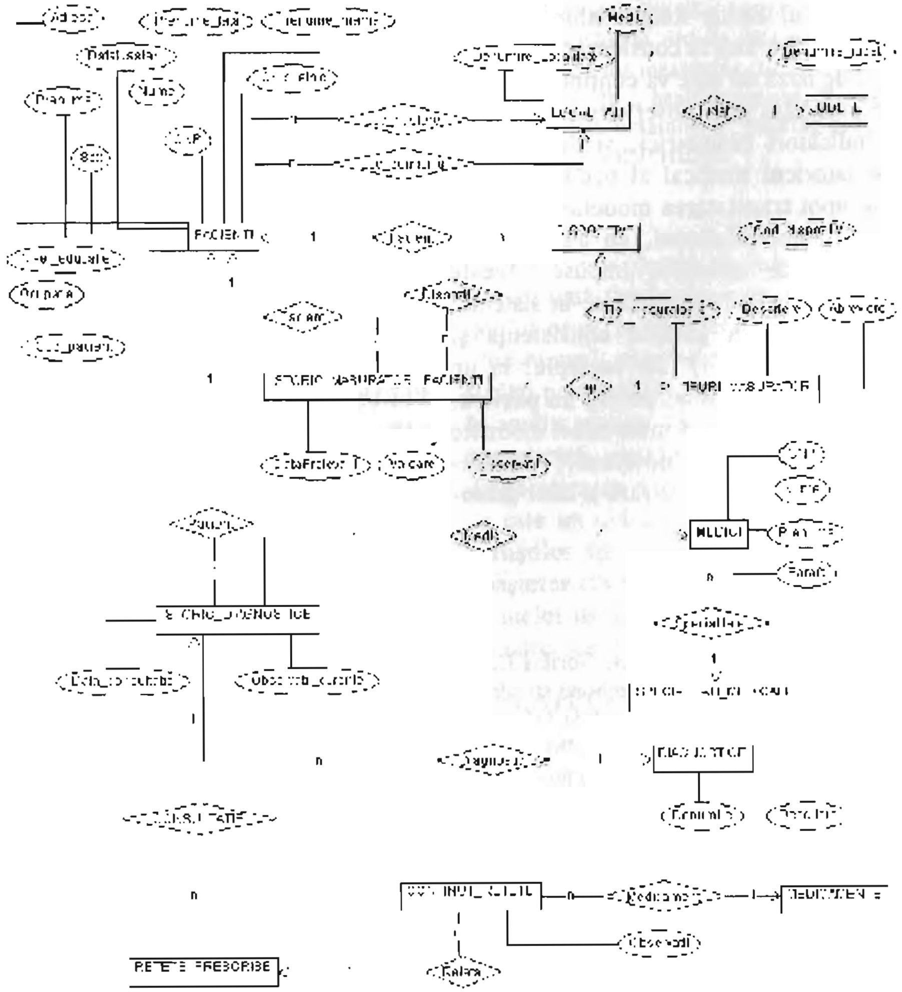

PACIENT
MEDIC

Fig. 3. Modelul Entity-Relationship al bazei de date

levate în decursul a câteva minute, la intervale de câteva ore).

Sistemul SIMPA va utiliza diverse tehnologii ne-proprietare şi standarde deschise care şi-au demonstrat în timp calităţile în diverse domenii. Acestea îi vor asigura totodată obţinerea unui grad ridicat de portabilitate şi extensibilitate. După recepţionarea pe server, informaţiile vor fi stocate într-o bază de date relaţională. Baza de date a fost proiectată şi analizată din punct de vedere formal (5).

REZULTATE

În primă fază a modelării datelor, a fost creat modelul Entity-Relationship al bazei de date (3). S-a luat în considerare faptul că o astfel de bază de date va conţine, pe lângă datele prelevate prin observări repetate ale unor indicatori biometrici, şi date clinice despre istoricul medical al pacienţilor S-a realizat apoi translatarea modelului ER obţinut în model relaţional, cu analiza constrângerilor ce trebuiesc impuse. Aceste constângeri vor fi implementate în sistemul software pentru a garanta consistenţa şi validitatea datelor (4). De exemplu, la un anumit moment de timp, pentru un pacient, nu pot fi efectuate două măsurători distincte pentru acelaşi tip de biosemnal; de asemenea, la fiecare înregistrare a unei măsurători, se vor efectua teste pentru a verifica dacă aceasta este în parametri normali. Informaţiile memorate in baza de date privind medicamentele si reţetele vor fi actualizate în concordanţă cu legislaţia în vigoare privind emiterea de reţete. În specificaţia sistemului software sunt descrise pe larg rezultatele analizei constrângerilor.

DISCUŢII

În cadrul acestei lucrări, am punctat principalele considerente arhitecturale ale aplicaţiei de telemedicină implementate în cadrul proiectului SIMPA. Un alt aspect important în proiectarea aplicaţiei este ca aceasta să fie uşor de folosit şi să permită examinarea clinică de la distanţă, punând la dispoziţia personalului medical, în timp cât mai scurt, informaţiile necesare acestuia, cu respectarea în acelaşi timp a prevederilor legale privind securitatea informaţiilor cu caracter personal, dar şi a normelor deontologice privin protejarea intimităţii pacienţilor şi confidenţialitatea informaţiilor despre aceştia.

CONCLUZII

Aplicaţia de telemedicină implementată în cadrul proiectului SIMPA a fost proiectată să permită monitorizarea pacienţilor la distanţă, alertarea şi diagnosticarea timpurie prin intermediul unor mijloace de comunicare moderne şi la un cost redus.

BIBLIOGRAFIE

1. Istepanian RH, Woodward B, Gorilas E, Balos PA. Design of mobile telemedicine system using GSM and IS-54 cellular telephone standards. *J Telemed Telecare* 1998; 4 (suppl 1): 80-82.
2. Singh V. *Telemedicine and Mobile Telemedicine Systems*. UAMS. Dec. 2006. Available at: http://works.bepress.com/vikas_singh/10
3. Chen PP. The entity-relationship model—toward a unified view of data. ACM Trans Database Syst 1976; 1 (1): 9-36.
4. Mancas C. On modeling closed entity-relationship diagrams in an elementary mathematical data model. *Proc East-European Conf Adv DB & Inf Syst ADBIS 2002*, 2002, vol. 2, Bratislava, 165-174.
5. Ullman JD. *Principles of Database and Knowledge-Base Systems. Volume II: The New Technologies*. Boston: W.H. Freeman & Co., 1990.
6. Kyriacou E, Pavlopoulos S, Bourka A, Berler A, Koutsouris D. Telemedicine in emergency care. *Proceedings of the VI International Conference on Medical Physics* Patras 99, Patra, Greece, 1999.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

BIOINGINERIE MEDICALĂ **ARTICOLE ORIGINALE**

EVALUAREA FORŢEI DE ÎNCĂRCARE PE ARTICULAŢIA ŞOLDULUI LA PACIENŢII CU ARTROPLASTIE TOTALĂ DE ŞOLD

Alina Zahariuc[1], Fl. Munteanu[2], V. Merticaru[1]
Facultatea de Mecanică
Universitatea Tehnică "Gh. Asachi" Iaşi
1. Catedra de Teoria Mecanismelor şi Robotică
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Bioinginerie Medicală
2. Disciplina de Biomecanică

HIP JOINT FORCE EVALUATION TO PACIENTS WITH HIP PROSTHESIS (Abstract): Gait biomechanical parameters is essential to establish the loosening of a hip prosthesis and provide important information about gait analyses from different orthopedics pathologies. **Material and methods**: A dynamometric platform was used for measuring the total ground reaction force for patients with hip prosthesis, compared with a healthy patient. **Results**: Using a theoretical model, the hip joint loading was calculated, obtaining a "walking profile".

Key words: HIP JOINT FORCE, GAIT ANALYSES, HIP PROTHESIS

Conform tuturor statisticilor recente, operaţiile de protezare la nivelul articulaţiei şoldului sunt din ce în ce mai frecvente, cu o cazuistică foarte variată, ce interesează toate categoriile de vârstă, preponderent populaţia de vârsta a treia, datorită scăderii posibilităţii de regenerare a capitalului osos, care este invers proporţională cu vârsta. Cea mai importantă problemă cu care se confruntă comunitatea ştiinţifică medicală şi inginerească la ora actuală, în ceea ce priveşte protezele de şold, este găsirea unei metode de diagnostic a slăbirii fixării implanturilor de şold. În paralel, se urmăreşte obţinerea unei proteze cât mai compatibile, capabilă să suplinească perfect articulaţia coxo-femurală lezată. Este binecunoscut faptul că durata medie de viaţă a unei proteze de şold este maxim 10-15 ani. Ori, dacă pacientul supus unei artroplastii totale de şold este tânăr, cu o vârstă de 25 ani, el va fi supus pe timpul vieţii sale la 4-5 operaţii de artroplastie. Această intervenţie medicală este una destul de traumatizantă, de fiecare dată fiind nevoie de reducerea capitalului osos, în funcţie de avansul stării de „loosening", care se traduce prin slăbire a fixării protezei (1). În plus, un „loosening" în stadiu avansat poate da naştere unor alte complicaţii, cum ar fi infecţiile. De aceea, diagnosticarea stării de „loosening" precoce este un obiectiv pe termen scurt a specialiştilor în domeniu. De asemenea, cunoaşterea cât mai precisă a forţelor şi mecanismelor de încărcare la nivelul articulaţiei bolnave sau artificiale este un deziderat.

MATERIAL ŞI METODĂ

În scopul determinării forţei care acţionează în articulaţia şoldului, a fost utilizată o platformă dinamometrică, cu ajutorul căreia au fost măsurate direct forţele de reacţiune din partea solului. Apoi, folosind metoda dinamică directă, s-a calculat forţa de reacţiune din articulaţia şoldului. Pentru acest lucru s-a utilizat un model complex al membrului inferior, care ţine cont de acţiunea muşchilor, model elaborat pe baza prototipurilor utilizate de Gideon Ariel (Ariel Dynamics) şi calculelor de anatomie mecanică efectuate de Pawels (2,3). Au fost testaţi 7 pacienţi aflaţi în diferite stadii ale protezării şi un subiect sănătos, utilizat drept etalon, profilele graficelor obţinute dând informaţii preţioase asupra parametrilor ce caracterizează mersul unui pacient sănătos versus un pacient cu afecţiuni locomotorii.

Platforma dinamometrică este un dispozitiv simplu, fiind realizat din două plăci din pal : placa superioară de dimensiune 500 mm × 500 mm iar placa inferioară de dimensiune 500 mm × 700 mm. Instalaţia este compusă din : batiul platformei, patru arcuri de compresiune montate în locaşuri speciale, un sistem roată dinţată - cremalieră, un arc de tracţiune, un scripete, platforma propriu-zisă (fig. 1).

Măsurătorile s-au realizat astfel : subiectul calcă cu un picior pe mijlocul plăcii superioare, depăşeşte platforma, după care se întoarce şi calcă cu celălalt picior pe platformă, acest ciclu fiind reluat de câte ori este necesar. Pe parcursul unui ciclu de mers, forţa de reacţiune din partea solului înregistrează un profil similar (situat în intervalul 1,006-1,63, fig. 2) cu cel descris şi în studiile de specialitate (3,4).

Curba descrisă prin culegerea datelor şi prelucrarea lor ulterioară are două maxime, primul maxim definind faza contactului cu solul (faza de călcâi) şi cel de-al doilea, desprinderea piciorului de sol (faza de vârf), forţa de reacţiune fiind evident mai mare la contactul calcanean decât la contactul degetelor. Minimul curbei este înregistrat la rularea tălpii pe platforma dinamometrică. Această curbă poate fi utilizată ca etalon la comparaţia cu diverse alte forme obţinute în cazul afecţiunilor locomotorii. Pe măsură ce creşte intensitatea mişcării, maximul înregistrat creşte proporţional. Este evident că la mişcări cum ar fi alergatul sau săritul, forţele în cauză se situează într-un alt interval, mult mai mare, raportat la greutatea subiectului de măsurat (6).

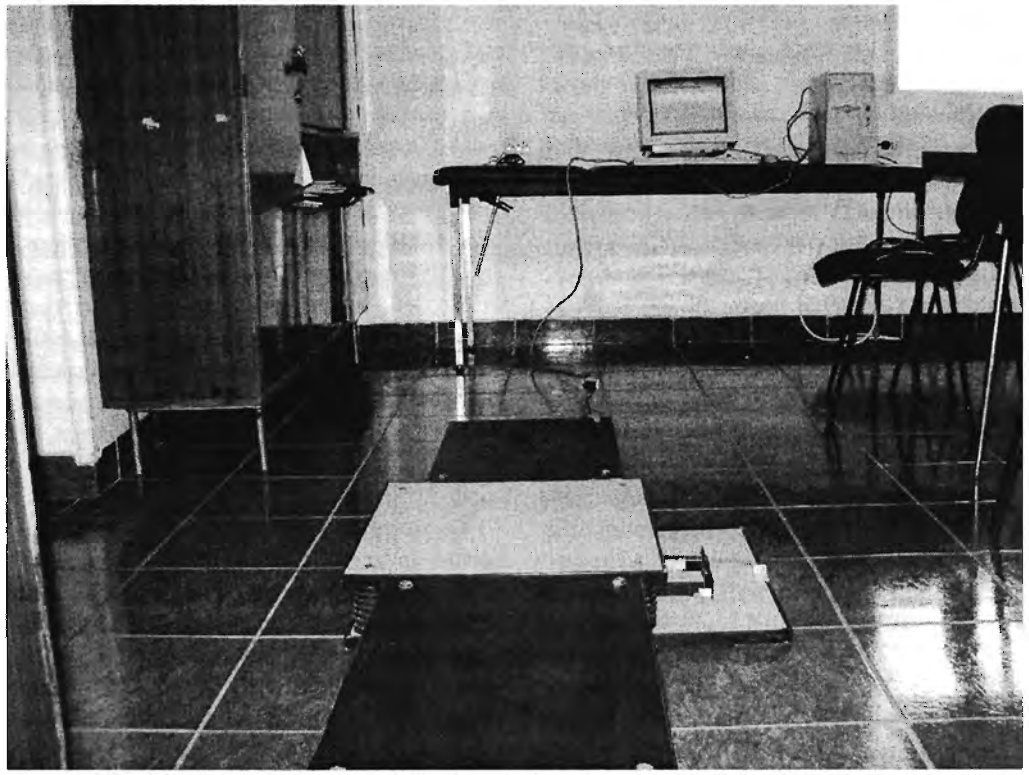


Fig. 1. Platforma dinamometrică - instaţia de măsurare a forţei de încărcare pe şold

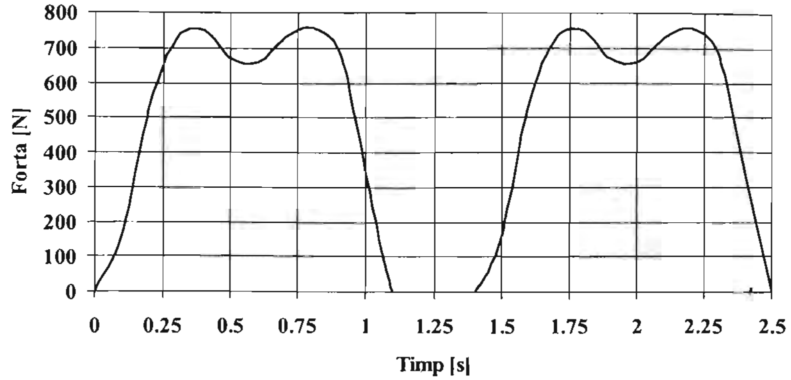


Fig. 2. Variaţia forţelor înregistrate de platforma dinamometrică pentru un ciclu de încărcare dus-întors pentru un subiect fără probleme locomotorii

Metoda care permite calcularea forţei de reacţiune de la nivelul şoldului este preluată din bibliografia de specialitate (3).

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Variaţia forţei de încărcare pe şold (raportată la greutatea corpului, ca paramentru de referinţă) pe parcursul unui ciclu complet de mers (în zecimi de secundă) este prezentată în graficele de mai jos. Au fost efectuate măsurători pe 3 pacienţi aflaţi în diferite stadii ale protezării şi 1 subiect sănătos, utilizat drept etalon (fig. 3-6).

Principala caracteristică a celor patru grafice este faptul că forţa de reacţiune din partea solului este mai mică decât încărcarea pe şold, diferenţa cea mai mare fiind în cazul pacientului sănătos. Profilele celor două forţe sunt similare, fiind descrise două curbe de forma a două maxime. Primul maxim, cu grad de amplitudine mai înalt descriind faza de călcâi, iar cel de-al doilea, mai jos, descriind faza de vârf. Minimul se înregistrează la rularea tălpii pe platforma dinamometrică. Comparativ cu greutatea corpului, intervalele de referinţă pentru maximele forţei de încărcare pe şold se situează între 2 - 3, cu maximul înregistrat pentru pacientul sănătos de 4,1, iar pentru

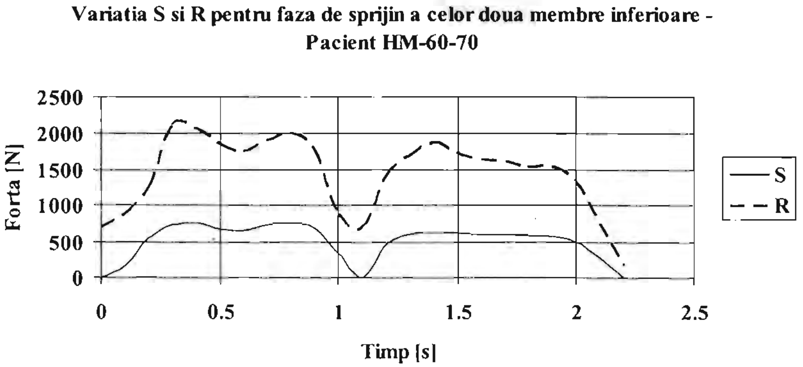


Fig. 3. Variaţia forţei de reacţiune în articulaţia şoldului (R) şi a celei din partea solului (S) - pacient HM, femeie, 60 ani, 70 kg, coxatroză cu proteză cementată stângă de 3 luni (al doilea pas)

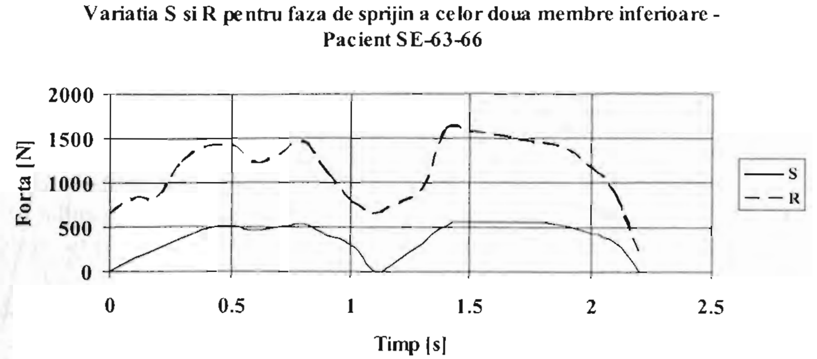


Fig. 4. Variaţia forţei de reacţiune în articulaţia şoldului (R) şi a celei din partea solului (S) - pacient SE, femeie, 63 ani, 66 kg. Evaluare la 9 luni de la protezare şoldul drept (al doilea pas)

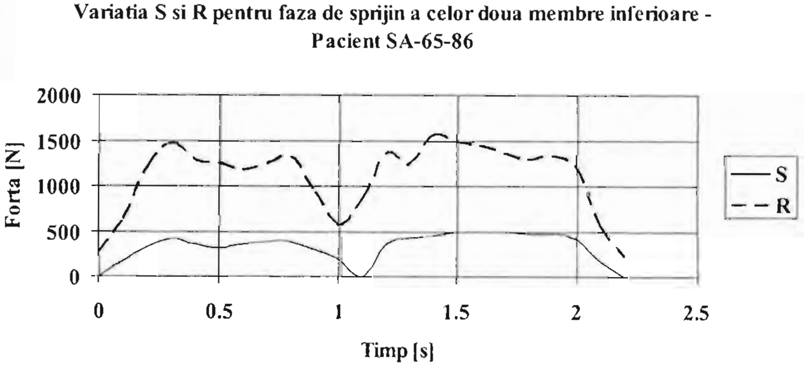


Fig. 5. Variaţia forţei de reacţiune în articulaţia şoldului (r) şi a celei din partea solului (S) - pacient SA, bărbat, 65 ani, 86 kg. Coxatroză şold drept, proteză cementată, prima revizie (al doilea pas)

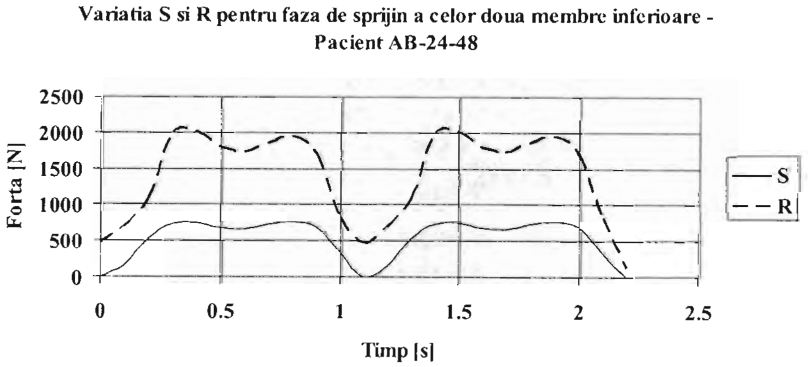


Fig. 6. Variaţia forţei de reacţiune în articulaţia şoldului (R) şi a celei din partea solului (S) - pacient sănătos, femeie, 24 ani, 48 kg

forţele de reacţiune din partea solului între 0,89 - 1,16, pentru pacientul sănătos acest maxim fiind de 1,5. Explicaţia dintre diferenţele semnificative dintre maximele înregistrate pentru pacienţii aflaţi în diferite stadii ale protezării comparativ cu cei sănătoşi provine din faptul că forţa de apăsare pe platforma dinamometrică este direct proporţională cu starea de sănătate în care se află pacientul al cărui parametri sunt înregistraţi; cu cât pacientul este mai sănătos, cu mers normal şi fără vreun fel de afecţiune locomotorie, cu atât această forţă este mai mare (7, 8). Pe de altă parte, este demn de remarcat faptul că, cu cât evaluarea pacientului se face la un timp îndelungat de la intervenţia chirurgicală, cu atât forma forţei de la nivelul şoldului se apropie de cea normală.

CONCLUZII

Utilitatea practică a acestor măsurători constă în comparaţia forţelor de încărcare din articulaţia şoldului cu reacţiunile din partea solului. Cu cât subiectul măsurat are un profil locomotor mai sănătos, cu atât diferenţele, atât calitative, dar mai ales cantitative dintre caracteristicile celor două curbe sunt mai evidente. Astfel, se poate stabili un prototip al profilului celor două maxime, obţinut pe baza măsurătorilor pe un pacient sănătos, cu care vor fi comparate profilele obţinute în urma măsurătorilor pacienţilor cu diverse tipuri de afecţiuni locomotorii generate de afectarea articulaţiei şoldului, interesând atât nivelul muscular, cât şi cel osos.

Sintetizând, pe baza comparaţiei dintre profilele obţinute în urma măsurătorilor celor 3 pacienţi bolnavi, comparativ cu cel sănătos, se poate afirma că:

1. Atunci când platforma înregistrează forţele dezvoltate la mersul pe piciorul bolnav, cele două maxime, corespunzătoare fazelor de contact calcanen, respectiv contactul degetelor cu solul se aplatizează, înregistrându-se un platou.
2. Cu cât durerea afectează mai mult pacientul cu atât faza de platou este evidentă, afectând chiar mersul pe piciorul sănătos, care preia parte din forţa de apăsare.
3. Suita de sinuozităţi care sunt înregistrate pe grafice este explicată de dificultatea cu care pacientul calcă pe platforma dinamometrică, pacienţii efectuând nişte pauze, când platforma dinamometrică are tendinţa de a se extinde, mişcările sale fiind discontinue.

BIBLIOGRAFIE

1. Bono JV, Scott RD. *Revision Total Hip Arthroplasty*. Berlin: Spring-Verlag, 2005.
2. Pauwels, F. *Biomechanics of the Normal and Diseased Hip: Theoretical Foundation, Technique and Results of Treatment: An Atlas*. Berlin: Springer-Verlag, 1976.
3. Botez P, Munteanu F. Evaluarea experimentală a dinamicii şoldului. *Rev Med Chir Soc Med Nat* 2005; 109 (4): 910-915.
4. Glaser D, Komistek RD, Cates HE. In vivo assessment of hip joint mechanics using a mathematical model, control system theory and data acquisition. *J Biomechanics* 2006; 39 (Supp 1): S46.
5. Winter D. *Biomechanics of Human Movement*. New York, Wiley, 1990.
6. Bergmann G, Deuretzbacher G. Hip contact forces and gait patterns from routine activities. *J Biomechanics* 2001; 34 (7): 859-871.
7. McGinley JL, Baker R, Wolfe R, Morris ME. The reliability of three-dimensional kinematic gait measurements: A systematic review.*Gait & Posture* 2009; 29 (3): 360-369.
8. Thomas SS, Buckon CE, Schwartz MH, Sussman MD. Walking energy expenditure in able-bodied individuals: A comparison of common measures of energy efficiency. *Gait & Posture* 2009; 29 (4): 592 596.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 4

BIOINGINERIE MEDICALĂ **ARTICOLE ORIGINALE**

MODIFICĂRILE PARAMETRILOR SPIROGRAFICI ÎN DIABETUL ZAHARAT TIP 2

Daniela Matei[1], Al.D. Ciochină[1], C. Corciova[2], Ana Stratone[3]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Bioinginerie Medicală
1. Catedra de Ştiinţe Biomedicale
2. Catedra de Instrumentaţie Biomedicală
Facultatea de Medicină
3. Disciplina de Fiziologie - Explorări Funcţionale

CHANGES OF SPIROGRAPHIC PARAMETERS IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS (Abstract): Diabetes mellitus (DM), metabolic disease with chronic evolution, affects various organs through its macro- and micro-angiopathic complications which it causes, one of this target organs for diabetes being the lungs. **Objectives**: The aim of the study is to evaluate the relationship between type 2 diabetes mellitus and the pulmonary function. **Material and method**: 50 non-smoking patients diagnosed with type 2 DM, without respiratory problems were included in this study. The control group consisted of 50 healthy volunteers with same age and height as those with diabetes. For all patients there were measured: height, weight, body mass index, plasma glucose, serum cholesterol, trigycerides. Then there were determined by computerized spirometry: forced vital capacity (FVC), forced expiratory volume in 1 s (FEV$_1$), peak expiratory flow (PEF), maximal expiratory flow at 50% from vital capacity (MEF50). These patients were re-evaluated after a 3-year period measuring the same parameters. **Results**: The study has shown a statistically significant decrease of spirographic parameters (FVC, FEV1, PEF, MEF50) in patients with over 5 years of evolution of type 2 DM, by comparison with the control group. The higher the metabolic unbalance, the lower were these parameters. **Conclusions**: Type 2 DM has long-term effects and determines disfunctions and deficiencies of various organs. Our study shows that the lung is a target organ for type 2 DM as well. **Key words**: DIABETES MELLITUS, COMPUTERIZED SPIROMETRY, SPIROGRAPHIC PARAMETERS

Diabetul zaharat (DZ), boală de metabolism cu evoluţie cronică, determină afectarea numeroaselor organe prin complicaţiile macro şi microangiopatice pe care le dezvoltă, unul din aceste organe ţintă ale diabetului fiind pulmonul (1).

O arie destul de puţin studiată este impactul hiperglicemiei asupra funcţiei pulmonare (2). S-a arătat într-un studiu că valoarea glucozei plasmatice este invers proporţională cu capacitatea vitală forţată (FVC) şi volumul expirator maxim în prima secundă (FEV1) (3).

Studiile mai recente au demonstrat că diabeticii au un răspuns ventilator scăzut în condiţii de hipoxie şi creşte percepţia la dispnee cu creşterea consecutivă a efortului respirator. La fel s-a observat că odată cu creşterea duratei DZ tip 2 are loc reducerea semnificativă a FEV1 şi PEF (debitul expirator de vârf) (4).

OBIECTIVE

Prezentul studiu îşi propune să investigheze funcţia pulmonară în DZ tip 2 şi cu ce indici se corelează: indici antropometrici, control glicemic, complicaţii microangiopatice.

MATERIAL ŞI METODĂ

50 de pacienţi (25 bărbaţi şi 25 femei) cu DZ tip 2, cu evoluţia afecţiunii mai mare de 5 ani şi 50 subiecţi sănătoşi (25 bărbaţi şi 25 femei) cu vârste şi talie asemănătoare diabeticilor au fost supuşi explorării funcţionale respiratorii în fiecare an, timp de 3 ani. Au fost excluşi din studiu pacienţii cu afecţiuni acute sau cronice pulmonare, fumătorii.

Pacienţilor li s-au determinat: talia, greutatea, indicele de masă corporală (IMC), glicemia bazală, hemoglobina glicozilată (HbA1c), colesterolul total şi fracţiile acestuia, trigliceridele. Ulterior s-au măsurat prin spirometrie computerizată (Cosmed Quark PTF): FVC, FEV1, indicele de permeabilitate bronşică (FEV1/FVC)x100, PEF, debitul expirator maxim instantaneu la 50% din capacitatea vitală (MEF50).

Toţi parametrii s-au măsurat după criteriile American Thoracic Society (5). Toate valorile au fost corectate BTPS (body temperature, air pressure, and water saturation). Valorile actuale ale determinărilor s-au raportat la valorile teoretice obţinute pe baza ecuaţiilor de regresie (6). S-au efectuat mai multe măsurări; 3 dintre cele mai bune determinări au fost supuse analizei.

Pacienţii au fost reevaluaţi anual timp de 3 ani măsurând aceiaşi parametri.

Analiza statistică a utilizat programele Microsoft Excel şi EpiInfo 6.0. Rezultatele au fost exprimate ca medie ± deviaţie standard.

Compararea rezultatelor s-a realizat cu ajutorul testului t Student sau al analizei varianţei (ANOVA). Au fost considerate semnificative statistic valorile p <0,05. Analiza de regresie liniară standard şi coeficientul de corelaţie r Pearson au fost utilizate pentru determinarea relaţiilor dintre parametri.

REZULTATE

Au fost analizate datele obţinute pe 50 de pacienţi cu DZ tip 2 şi 50 subiecţi sănătoşi.

Cele două loturi nu au prezentat diferenţe semnificative privind vârsta (F=0.22, p = 0,634) şi al sexului (Chi-pătrat χ^2 = 0,08969, p = 0,863, 95%CI).

Media vârstei a fost de 58,12±7,7 ani în grupul control şi de 58,52±7,9 ani la pacienţii cu DZ tip 2.

Durata medie de evoluţie a DZ a fost de 7,2±4,5 ani (minim 1 an, maxim 10 ani). Nouă pacienţi erau diagnosticaţi cu cardiopatie ischemică, dar nici un pacient nu era în evidenţă cu afectare vasculară cerebrală. 20 de pacienţi au fost diagnosticaţi cu hipertensiune arterială, 11 aveau retinopatie diabetică.

Media taliei a corespuns între cele două loturi: DZ - 168,3±9,09 cm vs control (C) - 169,2±7,9 cm, fără modificări statistice p >0,05.

IMC 29,6±3,69 kg/m^2 la diabetici a fost statistic semnificativ mai mare (p <0,01) faţă de grupul de control 27,24±2,9 kg/m^2, iar circumferinţa taliei a fost de 96,8 ±9,72 cm la diabetici vs control 88,1±8,4 cm, p <0,001.

Circumferinţa şoldului nu a prezentat modificări statistice între cele două loturi.

Raportul abdomen/coapsă a fost semnificativ statistic mai mare la diabetici 1,14 ±2,6, p <0,01 decât la grupul de control (tab. I).

Profilul biochimic evidenţiază: nivelele medii ale glicemiei à jeun în DZ-251,26± 109,4 mg/dL vs C-84,67±11,28 mg/dL, p <0,001, HbA1c în DZ - 8,7±1,3% vs C - 5,4±2,1 p <0,001.

Colesterol total în DZ - 246,2±60,6 mg/dL vs C - 182,7±29,7 mg/dL p <0,01, trigliceride DZ - 233,3±88,8 mg/dL vs C - 137,9±27,03 mg/dL, p <0,001 au fost mult mai mari la diabetici comparativ cu grupul de control.

TABELUL I

Caracteristica loturilor de studiu, conform datelor morfometrice şi bioumorale

Parametru	DZ 2	Control (C)
Vârsta (ani)	58,5±7,9	58,12±7,71
Inălţimea (cm)	168,3±9,0	169,2±7,9
IMC (kg/m²)	29,6±3,96	27,24±2,99**
Circumferinţa taliei (cm)	96,8±9,72	88,1±8,4**
Circumferinţa şoldului(cm)	101±3,5	100,2±2,6
Raport abdomen-coapsă	1,14±0,06	0,86±0,04**
Glicemia (mg/dL)	251,2±109,4	84,67±11,28***
HbA1c (%)	8,7±1,3	5,4±2,1***
Colesterol (mg/dL)	246,2±60,6	182,7±29,7**
HDLcolesterol (mg/dL)	40,26±3,63	44,57±4,18**
Trigliceride (mg/dL)	233,3±88,8	137,9±27,03***
LDLcoles (mg/dL)	139,5±58,2	133,6±51,2**
Notă: * - P< 0,05; ** - P< 0,01; *** - P< 0,001.		

HDLcolesterolul a fost scăzut la diabetici (40,26±3,63%, p <0,01).

Testele pulmonare respiratorii s-au efectuat pe parcursul a trei ani (unul pe an).

Analiza statistică asupra valorilor primei determinări evidenţiază: FVC% în DZ - 94,8±7,84 vs C - 98,79±7,55 prezintă modificări cu semnificaţie statistică (F = 18,08, p <0,01, 95%CI). FEV1% în DZ - 91,91±9,93 vs C - 96,2±8,47 prezintă valori mai mici la diabetici (F = 23,5, p <0,05, 95%CI). PEF în DZ - 7,34±1,47 L/s vs C - 8,5±2,07 L/s prezintă o scădere cu importanţă statistică (F = 18,59, p <0,01, 95%CI).

Indicele de permeabilitate bronşică (F = 7,23, p=0,873) şi MEF50 (F = 1,41, p=0,2376) nu prezintă modificări statistice între grupuri.

Evaluarea finală a parametrilor funcţionali respiratori evidenţiază modificări cu semnificaţie statistică pentru: FVC% în DZ - 85,79±7,9 vs C - 94,7±6,7 (F = 38,08, p = 0,0001); FEV1% în DZ - 86,6±8,98 vs C - 92,13±6,7 (F = 30,43, p = 0,0000, 95%CI); PEF în DZ - 5,34±1,47 L/s vs C - 8,1±2,07 L/s (F = 49,89, p = 0,0001); MEF50 în DZ - 4,43±1,08 L/s vs C - 4,97 ±0,8 L/s (F = 6,11, p = 0,01).

Indicele de permeabilitate bronşică nu prezintă modificări cu importanţă statistică între grupuri (F = 2,74, p = 0,1012).

Rezultatele testului de corelaţie Pearson, pentru un interval de confidenţă de 95% indică o corelaţie semnificativă inversă între valorile glicemiei şi parametrii funcţionali respiratori FVC% (r = -0,12, p = 0,0001), FEV1% (r= -0,306, p = 0,001), PEF (r= -0,14, p = 0,0001); coeficienţi de corelaţie care indică scăderea valorilor parametrilor pentru valori ridicate ale glicemiei. O corelaţie inversă se observă între valorile trigliceridelor şi parametri funcţionali respiratori FVC% (r = -0,78, p <0,05), PEF (r = -0,48, p <0,05). S-a observat o corelaţie negativă între IMC şi FVC% (r = -0,75, p <0,01), FEV1% (r = -0,44, p <0,05), PEF (r = -0,58, p <0,05).

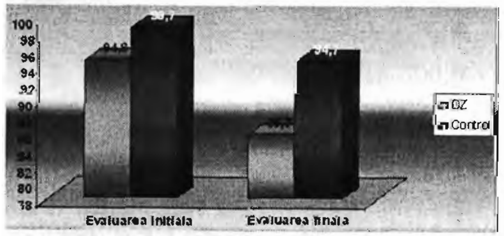


Fig. 1. Variaţia FVC între cele două loturi de studiu

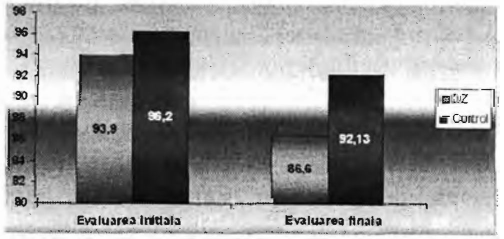


Fig. 2. Variaţia FEV1 între cele două loturi de studiu

TABELUL II

Parametri spirografici la diabetici cu şi fără retinopatie

Parametru	DZ cu retinopatie	DZ fără retinopatie
FVC%	72,6±7,36	86,9±7,9***
FEV1%	79,3±5,7	89,6±8,5**
PEF (l/s)	4,12±1,4	5,9±1,7***
Notă: * - P< 0,05; ** - P< 0,01; *** - P< 0,001.		

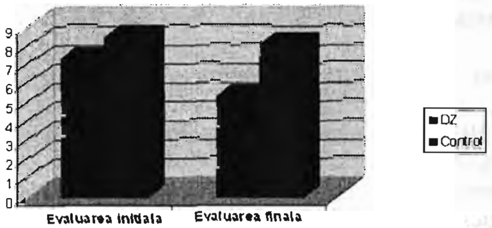


Fig. 3. Variaţia PEF între cele două loturi

Analiza statistică a evidenţiat faptul că diabeticii cu retinopatie au avut valori mult mai mici ale FVC, FEV1, PEF decât ceilalţi diabetici (tab. II).

Media scăderii valorilor testelor funcţionale respiratorii a pacienţilor diabetici a fost de 61,6 mL/an (1,1% prezis/an) pentru FVC, 70 mL/an (1,6% prezis/an) pentru FEV1.

Scăderea FEV1, dar cu indice de permeabilitate bronşică în limite normale demonstrează existenţa unei tulburări restrictive a ventilaţiei la pacienţii diabetici.

DISCUŢII

Microangiopatia şi dereglările imune sunt consecinţe cunoscute ale hiperglicemiei dar modul în care acestea influenţează afectarea plămânilor nu a fost studiat suficient (2). Glicozilarea non-enzimatică şi stresul oxidativ datorate dereglărilor metabolismului glucidic sunt considerate o verigă de bază în patogenia microangiopatiei diabetice (2). Prezenţa marcherilor stresului oxidativ [N (epsilon)-carboxymethyl)lysine] în pulmoni confirmă implicarea vaselor pulmonare în acest proces (7).

Microangiopatia diabetică afectează capilarele septurilor alveolare, arteriolele pleurei şi plămânului, care se manifestă prin plasmoragii, insudaţie, îngroşarea membranelor bazale, hialinoza vaselor, ceea ce favorizează dezvoltarea nodulilor intraseptali, granuloame în pereţii vaselor mici, proteinoză de focar şi scleroza vaselor patului microcirculator (8).

Efectele negative ale diabetului asupra capilarelor alveolare sunt în strînsă legătură cu vârsta, durata diabetului şi excreţia albuminei cu urina (9,10).

DZ poate afecta microcirculaţia pulmonară mărind permeabilitatea pereţilor vasculari, schimbarea funcţiei lor de barieră, imbibiţia plasmatică a vaselor şi dezvoltarea proceselor distrofice, micşorând schimbul gazos, ceea ce duce la dereglarea funcţiei şi eficienţei respiratorii (7).

Afectarea microcirculaţiei şi prezenţa neuropatiei duc la modificări ale mecanicii respiratorii, hemodinamicii pulmonare, răspunsului imun şi hiperreactivităţii bronhiilor (2,4).

CONCLUZII

Studiul nostru a demonstrat că valorile parametrilor funcţionali respiratori ai diabeticilor sunt semnificativ statistic reduse comparativ cu grupul de control. Datele sugerează că pulmonul este un organ ţintă în diabetul tip 2 şi că hiperglicemia cronică, controlul redus al diabetului determină scăderea parametrilor funcţionali respiratori. Scăderea este şi mai severă dacă diabetul este asociat cu complicaţii microangiopatice (retinopatie diabetică etc.).

BIBLIOGRAFIE

1. Sandler M. Is the lung a "target organ" in diabetes mellitus? *Arch Intern Med* 1990; 150: 1385-1388.
2. Philips B, Baker E. Hyperglycaemia and the lung. *Br J Anaesthesia* 2003; 90 (4): 430-433.
3. Davis TM, Knuiman M, Kendall P et al. Reduced pulmonary function and its associations in type 2 diabetes: the Fremantle Diabetes Study. *Diabetes Res Clin Pract* 2000; 50: 153-159.
4. Benbassat CA et al. Pulmonary function in patients with diabetes mellitus. *Am J Med Sci* 2001; 322 (3): 127-132.
5. *** American Thoracic Society: Standardization of spirometry, 1994 update. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 1107-1136.
6. Eaton T, Withy S, Garrett JE, Mercer J, Rea HH. Spirometry in primary care practice: the importance of quality assurance and the impact of spirometry workshops. *Chest* 1999; 116: 416-423.
7. Shleicher ED, Wagner E, Nerlih AG et al. Increased accumulation of the glycoxidation product N(epsilon) (carboxymethyl) lysine in human tissues in diabetes and aging. *J Clin Invest* 1997; 99 (3): 457-468.
8. Ardigo D, Valtuena S, Zavaroni I et al. Pulmonary complications in diabetes mellitus: the role of glycemic control. *CurrDrug Targets Inflamm Allergy* 2004; 3 (4): 455-458.
9. Guvener N, Tutuncu NB, Akcay S, Eyuboglu F, Gokcel A. Alveolar gas exchange in patiens with type 2 diabetes mellitus. *Endocr J* 2003; 50 (6): 663-667.
10. Sinha S, Guleria R, Mirsa A et al. Pulmonary functions in patients with type 2 diabetes mellitus & correlation with anthropometry & microvascular complications. *Indian J Med Res* 2004; 119 (2): 66-71.

NOUTĂŢI

CARVEDILOLUL VERSUS LIGATURA CU BENZI ELASTICE A VARICELOR ESOFAGIENE ÎN PREVENIREA PRIMEI SÂNGERĂRI

Tratamentul actual în prevenirea primei sângerări variceale constă în administrarea de beta-blocante şi ligatura cu benzi elastice a varicelor. Carvedilolul, un beta-blocant cu proprietăţi vasodilatatoare, este mai eficient în reducerea presiunii portale în comparaţie cu alte beta-blocante. Obiectivul acestui studiu a fost compararea Carvedilolului şi a ligaturii cu benzi elastice în prevenirea primei sângerări variceale într-un trial controlat randomizat multicentric. Au fost incluşi în studiu 152 pacienţi din 5 centre diferite, diagnosticaţi cu ciroză hepatică şi varice esofagiene grad II sau mai mare. 77 pacienţi au primit Carvedilol şi 75 au beneficiat de ligatura elastică. Doza iniţială de Carvedilol a fost de 6,25 mg/zi în priză unică. După o săptămână doza a fost crescută la 12,5 mg/zi dacă TA sistolică ≥90 mmHg. Ligatura cu benzi elastice s-a efectuat la fiecare 2 săptămâni până la eradicarea varicelor. Caracteristicile populaţiei studiate au fost: vârsta medie - 54 ani, scor Child = 8, boală hepatică alcoolică - 73%; perioada de urmărire a studiului a fost de 20 luni. Carvedilolul a avut rată mică de sângerare variceală (10% versus 23%; risc relativ 0,41; 95% interval de încredere 0,19 - 0,96 şP = 0,04ţ), fără diferenţe semnificative în mortalitatea generală (35% versus 37%, P = 0,71) şi în mortalitatea determinată de sângerare (3% versus 1%, P = 0,26). 6 pacienţi din grupul cu ligatura varicelor esofagiene au sângerat în urma procedurii. În concluzie, Carvedilolul este eficient în prevenirea primei sângerări variceale şi este o opţiune pentru profilaxia primară a pacienţilor cu varice esofagiene cu risc înalt (Tripathi D, Ferguson JW, Kochar N et al. Randomized controlled trial of carvedilol versus variceal band ligation for the prevention of the first variceal bleed. *Hepatol* 2009; 50 (3): 825-833).

Iuliana Frasilă

INDEX INDEX AUTORI

A

Agafiţei GE 257
Agoroaie L 593
Albu A **554**, 864, 1227
Albu DF 32, 363
Albu E 502
Albu M 554
Albuţ I 1195
Aldica R 564
Alexa ID **376**, 762
Alexa O **1155**
Aluculesei A 892
Alupoaiei A 751
Amălinei C 173
Ambaruş V 673, 964
Aminov L 227
Anca T 795
Ancuţa C **710**
Ancuţa E 710
Andercou A 68
Andrian S 235
Andriţoi D 610
Anistoroaei D **250**
Antal M 206
Antohe ME 558, 583, 564, 570, 1263, 1268
Anton AC 140
Anton D 1093
Anton G 1025
Apostu M 59
Aprodu G154
Aprotosoaie AC 1274
Ardeleanu Ş **762**
Arsenescu Georgescu C 1016
Artenie R 673
Artenie V 832, 1182
Aursulesei D 136, 809
Aursulesei V **667**, **1006**
Azoicăi AN **745**
Azoicăi D 540, **647**, 650, 745, 1211, 1216
Azzena B 453

B

Babiceanu C **1249**
Badea M 145
Badiu C471
Bagiu R 206
Bahnea RG **428**, **1099**
Balan Gh 698
Balog C **231**, 246
Banceanu G 159
Barbacariu L 416
Barbarii L 516
Bassetto F 453
Batog AH 751
Băciuţ G 145, 231, 246,
Băciuţ M **145**, 231, 246
Bădărău IA 32, 363
Bădescu M 838
Bălănică G 650, 1211
Băutu A 1289
Băutu E **1289**
Belibou C 710
Bemba M 516
Bercea B 1151
Berteanu C 339
Bica V 516
Bild E 941
Bild V **589**
Bîclea CV 549, **869**
Boboc A 814
Bogdănici CM 1120
Boian I 803
Boiculese LV **527**, 803
Bologa C 1025
Botez C **154**
Botez C **217**
Bozomitu L 1093
Braha E 523
Bran S 145, 246, 1141
Bredeţean O 279
Brezulianu A **120**
Brumariu O 1107
Bucur IM 376
Bujoran C 523
Bulea D 589
Burcoveanu C 125, **1131**
Burcoveanu I 125
Burlacu G 1126
Burlacu M 1093
Burlea M 103, 432, 656
Burlui V 625
Busuioc M **984**
Butnariu L 523
Butnaru E 593
Buţureanu Şt 799

C

Caba L **523**
Caba M 235
Campian RS 246
Candussi L 154
Carasevici E 1034, 1176, 1182, 1216
Cărăuleanu A 132
Cârdei E 428, 1093
Carsote M 996
Caşcaval D 619, **934**
Cămăruţ Şt 934
Căpraru LC 558
Ceauşu I 471
Cepoi V **1070**
Cernea D **339**
Chetreanu L 382, **845**
Chifu C 771
Chiosac AA 740
Chirieac R 710
Chiriţă C 996
Chiriţă R 663
Chiriţă V 53, 89, **663**, 879
Chistol RO **757**
Chivu LI 32, 363
Chivu RD 32, 363
Christopher K 108
Cianga C 819
Cianga P 819
Cijevschi Prelipcean C 345, 1066
Cimpoieşu D 48
Cimpoieşu N 892
Cioancă O **604**, **1274**
Ciobanu D 1102
Ciobanu O **927**
Ciobică A **832**
Ciochină AID **279**, 1298
Ciocoiu M 838
Ciorap R **610**, 1289
Ciortescu I **330**, **1048**
Ciubotariu D 899
Ciuhodaru L 727
Ciuhodaru T **727**
Ciurea E **826**
Ciureanu IŞt 180
Ciutea M 673
Cobuz C **353**
Cobzeanû MD **814**
Cojocariu C 59, **140**, 704, 1040
Cojocaru E **180**
Cojocaru I 428, 1099
Cojocaru L 1222
Coman AE 322
Coneac G 921
Constantin B **680**
Corciova C 610, 1298
Cordeanu A **197**
Cordeanu EM 197
Cosmescu A 416, 740
Costăchescu Gh 140, 497
Costinescu V 1126
Costuleanu M 180
Cotea E 482
Cotuţiu C 505, 1258
Covic M **13**, 523
Covic M 13
Covic A 984, 1070
Cozma A 1006
Cozma Dima C 371
Cozma L 509, 799
Crăciun AM **570**
Crăciun AI **558**
Crişan A **766**
Crişan B 246
Crişan DC 795
Cristescu C 397, 1170
Crivoi F 899
Crumpei F 482
Cucer F **1107**
Cuciureanu R 502, 1195
Curic L **453**
Curşeu D 858

D

DaRocha RC 108
Danciu E 803
Dascălu GC **583**
Datcu G 667
Datcu MD 667, 1006
Dănăilă C 1176
Dănilă Gh 279
Dănilă I 235
Dăscălescu A **1176**
Deac R 459
Deutsch PM 788
Diaconescu D 197
Diaconu G **432**, **656**
Diaconu C 771
Diaconu D 751
Dimitriu AG 733
Dimofte G 780
Dincă M 180
Dinu C 145
Dinu H 246
Dobrin RP 53
Dobromir N 150
Dogaru Gr 108
Domnişoru L **299**
Dorneanu O 192, 402, 410, 721
Dorneanu V 59, 268, 598, 1285
Dorobăţ C 402, 991
Doroftei B 803
Dranga M 1066
Drăgan MV 1001
Drăgan S 397, 1170
Dronca E 68

Dronca M 68
Dudea D 145
Dudea S 145
Duică L 663
Duicu O 397, 1170
Duma O 680, 874
Dumitrache F 1191
Dumitrescu AlL 575
Dumitrescu A 386
Dumitrescu DM 386
Dumitrescu GF 819
Dumitriu G 527
Dumitriu I 533
Dumitru DC 132, 279
Dumitru IL 180

E

Earar N 558
Efrosă I **93**
Ene M **533**

F

Făgărăşan A 459
Felea D 416, 740
Ferariu D 482
Fica S 32
Filip Ciubotaru FM **315**, **975**
Filip C 502, 1195
Filip O 416
Filip V 780
Filipiuc S **1238**
Finta H 1231
Fira M 120
Flocea P 286
Florescu L **650**, **1211**
Floria M 673
Focşa M 788
Foia L 315, 975
Forna NC 558, 564, 570, 1263, 1268
Frîncu DL 173, 1191
Frasin M 432
Furnică C 757

G

Galaction Al **619**, 934
Galazios G 471
Galeş C 899
Garbea C 570
Gârbuleţ D **1285**
Gavăt V 211, 849, 864
Gavrilescu CM 423
Gavriluţ M 497
Gazzi E 120
Gămescu M 516, 523
Georgescu C **211**, **849**
Geormăneanu C 48
Gheorghe L 814
Gherasim S **1066**
Ghimpu S **1093**
Ghiorghe A 235
Ghiuru R 423
Gille E 1280
Gonţea M **864**
Gorduza EV 523
Goţia S 103
Graur M 345, 1048
Grecu M **1016**
Grigoraş A **505**, 1034
Grigoraş CC **1034**
Grigore C 322
Grigore G 1176
Grigore I 432, 656
Grigore L 991
Grigore M 140, **1113**
Grigorescu EO 505
Grigoriu A 73
Grosu S 1136
Groza M 838
Gurzu B 180, 533
Gusbeth Tatomir P 984

H

Haba D 1253
Haliga R 826, **1200**
Hamburda T 227
Hanganu SC **221**
Hatzivassiliou A 438
Hăncianu M 604, 1274
Hănţăscu I 814
Hegheş A 921
Hemcinschi A **1280**
Hochman ME 108
Hoţoleanu C **68**
Hristodorescu C 533
Hriţcu L 832
Hurmuzache M 402
Hurubeanu L 246
Huţănaşu C **59**, 1040, **1061**
Huţănaşu M 1061

I

Iacob Gh 279
Iamandi GL 826
Iancu LS 1205, 1238
Iancu A 145
Iatrakis Ğ 471
Iatrou Ch 438
Ilie AC **1136**
Ilie AM **1222**
Iliescu ML 217, 845
Iliev Gh 497
Imbrea A **814**
Indrei A 164, 814, **819**, 1160
Indrei LL 211, 554, **1227**
Ion DA 32, 363
Ionac M 788
Ionaşcu AB **159**, 911
Ionescu D 397, 1170
Ionescu S 964
Ionuţ C 858
Iordache C **116**
Iordache Cr 710
Iosep I **509**
Iọva A **1089**
Iovan G 235
Ivan A 79, 549, 647, 1099
Ivan L 150, 509
Ivănescu B 911

J

Jaba I 371
Jătariu A 164, **1160**
Jerca L 1195
Jerzicska E 459
Jitaru D 1176
Juncar M 1141

K

Krasniqi A **692**

L

Lascu A 788
Lazăr MI 911
Lazăr R 766
Lăcătuşu C **345**
Lăcătuşu D **185**
Lăcătuşu Şt 241, 1258
Lăzăreanu A 1222
Leca D 402
Leca D 192
Leon M 371
Lepădatu D 386
Liberis V 471
Lionte C **1025**
Logigan C **721**
Luca E 899
Luca MC 428, **991**, 1099
Luca V 192, 402, 410
Luca Colev V 826, 1200
Luca A 116
Luca M 428, 1099
Lucaciu O 246
Luchian A 799
Luncă C 1238
Luncă S 478, 453, 466
LupaşcuC 780
Lupaşcu Anghelache I 803
Lupu A 391

M

Malgarinos G 97, 438
Manciuc C 402, 975
Mândrescu M **268**, **598**
Manole M 416
Manole A 79, 549, 716, 869, 1222
Manoliu A 593
Marciuc C 315
Marcus S 799
Mare A 1113
Mareş L 838
Mârţu S 904
Matei D **1298**
Matei M 79, **540**, 549, 716, 869, 1211, **1216**
Maxim A 1253
Maximov D 391
Mătăsaru S 416, 740
Merikas E 97
Merticaru V 1293
Miclăuş Şt **391**
Miclea LM 921
Miftode E 192, **402**, 410
Mihai B 345
Mihai C 345, 1066
Mihalache D **809**
Mihalache D 721
Mihalcea C **685**
Mihalcea D 136
Mihalcea P 1089
Mihăescu Tr 1034
Mihăicuţă Şt 766
Mihăilă G 1102
Mihăilă D 116, 1093, 1107
Mircea C **593**
Mircea R **1191**
Miron A 604, 1274
Miron I 93, 1107
Miron L 59
Miron N 803
Mitre I 145
Mitrea G **733**
Mitrofan EC **42**
Mitu F **23**, **371**, **1001**
Miu S 710
Mocanu V 575, 826, 1200
Moisă ŞtM **103**, 432
Moldoveanu MC **964**
Moldoveanu R 482, **780**
Molfea VA 386
Morariu D 533
Moraru D 1093
Moraru E 103, 745
Moraru M 757
Moraru R 814
Mornoş C 391
Moscalu M 527
Motoc A 795, 1136
Muller R 1107
Muntean E 264
Munteanu L **874**
Munteanu M 1107
Munteanu Al **293**
Munteanu A 941
Munteanu Fl 286, **941**, 1293
Munteanu I **125**
Munteanu V 154
Murariu A 221
Murariu GC 322
Muscă S 140
Musteaţă A 564,**1263**
Muşat M 996
Mutiu Tr 533

N

Nacu C **301**
Navrozoglou I 471
Năsui B **858**
Neagoe R 459
Neagu E 516
Nechifor M 899
Necula R 1280
Negură A 1182
Negură L **1182**, 1216
Neica S 589
Nemescu D 1205
Nica I **892**
Nica C 1136
Nicola T 397, 1170
Nicolae O 1238
Niculescu D 482
Nicuţă N 619
Novac M 339
Novac O 416, **740**
Noveanu L 397, 1170
Nunchievici IM241

O

Oancă ME 84, 423, **549**
Oancă G **84**, **423**, 549, 869
Oboroceanu T 1200
Oboroceanu D 826
Olariu I 921
Olaru TR 206
Oltean C 1093
Oniga I 264
Onişor-Gligor F **1141**
Onofriescu M 132, 1205
Onu B **625**
Oros C **1146**

P

Pandele GI 386, 685, 964
Panduru NM **32**, **363**
Panteris V 97
Pascal Al **150**
Pascal C 1222
Pascu M **257**
Patraulea F 1231
Pavelescu MDG 589, 915
Pădurariu M 832
Păduraru I 1200
Păscuţ D 795
Păscuţ M 795
Păun I **497**
Peitsidis P 471
Peptu C **164**, 1160
Peros G 97, 438
Petcu A **1253**
Petcu LC 1289
Petrache G **915**
Petrache SM **192**, **410**
Petrariu FD 211, 849, 864
Petraru C 84
Petrescu C **206**
Petrescu Gh 180
Petrescu Z 509
Petriş O 1025
Petroaie A 416
Petrovanu C 322
Petrovanu R **322**
Petrovici CM 410
Pintilie C **1126**
Pintilie P 803
Plămădeală P 116
Poeată I 293
Pohaci C **838**
Poiană C **996**
Poiată A 593, **911**
Pomazan VM 1289
Popa M 164, 286, 1160
Popa D 391
Popa E 322
Popa G 650
Popa M 858
Popescu R 25
Popescu E 899
Popia I 1155
Preţea M 453
Pricop Z 159
Pricop A 1131
Prisada O 762
Profire L 257, 279
Puşchiţă M 391

R

Rada C 554
Radu VD **1151**
Raţiu A **795**
Rădoi D 23
Răducan A 397, 1170
Rădulescu D 32,173
Rezuş C **73**, 673
Riviello ED **108**
Rîpă C 428, 1099
Romedea SN 466, 727
Roşca MG 442
Rotaru A 48
Rotaru Al 1141
Rotaru L **48**
Rotaru H 145, 246
Roznoveanu SL **173**
Rugină A 103
Rusu C **516**, 523, 1107
Rusu D 814
Rusu G **279**
Rusu RI 376
Rusu R 68
Rusu V **9**, 185, **313**, 482, 892, **961**

S

Sabău M 1089
Sîngeap AM 1040
Sariban Al 108
Sava A 1136
Savoiu G **397**, **1170**
Sălceanu M **227**
Săndulache L **1056**
Scripcariu V **442**
Scutariu MM **885**
Scutaru B 180
Sfarti C 59, **704**, **1040**, 1048, 1061
Sindilar A 799
Sireteanu A 516
Siriac O 751
Sîntean ME **788**
Sîrbu D 858
Sîrbu-Boeti M 125
Skrypnyk C 516
Slănină AM **416**
Slătineanu SM 180
Socolov R 799
Socolov D **803**
Solovăstru Gheucă L **751**, **1083**, 1102
Spircu T 159
Stafie C **64**
Stamate R 564, **1268**
Stamatin M 733
Stan M 1048
Stanciu C 59, 330, 698, 704, 1040, 1048, 1056, 1061
Stănescu C 1222
Stănescu U 593, 604, 1274, 1280
Stătescu C 1102
Stătescu L **1102**
Stoica B 1200
Stoica M 339
Stratone A 615, 1298
Stratulat S 814
Străulea AO **89**, **879**
Suciu H **459**
Suciu O 206
Szasz F 1231
Szavuj J 1231
Szucsik IA 1136

Ş

Şerban C 397, 1170
Şorodoc L 120, 1025
Şorodoc V 1025
Şova MR **53**
Şpac AF 59, 268, 598, 604, 1285
Ştefan S 125, 1131
Ştefănescu G **698**

T

Talạu Gh 663
Tamaş M 264
Tamaş M 869
Tansanu I 93
Tarcea M **1231**
Târcoveanu E **482**, 780
Tatarciuc MS **579**
Tătaru LC **615**, **1120**
Tătaru S 740
Teslaru S 575, **904**
Toiu A **264**
Topală R 125
Topoliceanu C 227, 235
Trandafir L 432, 1093
Triandafillidis JK **97**, **438**
Trifan Ad 1274, 1280
Trifan A 59, 704, 1040, 1061
Trifan M 716
Tsikouras P 471
Tuchiluş C 593, 911
Tudorache V 766
Turcu T 721
Turnea M 610

Ţ

Ţigău MM **79**, **716**
Ţilea I 459

U

Ungureanu D 502
Ungureanu G 376, 762

Ursache A 1131
Ursu RG **1205**

V

Vasilache F 558
Vasile C 257
Vasilescu A 482, 780
Vataman M 227
Vataman RM **1258**
Vataman R 227
Vâţă D 751, 1083
Vâţă A 402, 410, 991
Velenciuc I 466, 478
Velenciuc N **466**, 478
Vereş L 1034
Vereştiuc L 286
Vişan D **564**
Vişănescu M **1077**
Vizureanu P 892
Vlad N 780
Vlaia L **921**
Vlaia V 921
Vlădoianu A 339
Voicu M 397, 1170
Voloşciuc M 516, 523
Volovăţ C 1070
Voroneanu M 885, 1146, 1249
Voştinaru O 264

W

Wang KC 108

Z

Zaharia D 610, 615
Zahariuc A **1293**
Zamosteanu N **502, 1195**
Zanoschi G 217
Zbranca E 482
Zbrenghea D 382
Zervoudis St **471**
Zlei M 1176
Zugravu C 1231
Zugun Fl 482

INDEX CUVINTE CHEIE

A

ABDOMINAL OBESITY 864
ACE INHIBITORS 23
ACID-BASIC DISORDERS 733
ACUTE HEPATITIS 766
ACUTE KIDNEY DISEASE 984
ACUTE MYELOID LEUKEMIA 1176
ACUTE RENAL FAILURE 108
ADALIMUMAB 710
ADENOSINE 180
ADIPOCITOKINES 1006
ADIPONECTIN 345
ADVERSE DRUG REACTION 1102
AFLATOXIN 59, 1061
AGNOR 173
AINS 589
ALCOHOL INTAKE 382, 692, 845, 858, 1066
ALVEOLAR BONE LOSS 575
ALZHEIMER DEMENTIA 1089
AMPC 13
ANEURISM 293
ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME INHIBITORS 964
ANKLE-BRACHIAL INDEX 788
ANKYLOSING SPONDILITIS 79
ANKYLOSING SPONDYLARTHRITIS716
ANTIBACTERIAL AGENTS 221
ANTIBIOTIC RESISTANCE 416
ANTIBIOTIC TREATMENT 416
ANTI-CYCLIC CITRULLINATED PEPTIDE ANTIMICROBIAL ACTIVITY 911
ANTINUCLEAR ANTIBODIES 73
ANTIOXIDANT ACTIVITY 1274
ANTIOXIDANT SYSTEM 315
ANTRAL SEPTA 1141
ANXIETY 386
ANXIETY CONTROL 1146
AORTIC SCLEROSIS 964
ARTEMISIA ABSINTHIUM 911
ARTEMISIA ANNUA 911
ARTEMISIA VULGARIS 911
ARTERIAL FIBRILLATION 673
ARTERIAL HYPERTENSION 667
ARTERIAL REMODELING 673
ARTERIAL STIFFNESS 667
ARTHRITIS 103
ASPHYXIA 733
ASSIMILATORY PIGMENTS 57
ASSISTED SUICIDE 663
ATHEROSCLEROSIS 397
ATRIAL FIBRILLATION 376
ATRIAL FLUTTER 1016
AUTOIMMUNE HEPATITIS 745
AUTOLYTIC ATTEMPT 727

B

BACTERIAL MENINGITIS 402
BENZIMIDAZOLE 274
BENZODIAZEPINES 89, 879
BENZODIAZEPINES DEPENDENCE 89, 879
BILATERAL HYDRONEPHROSIS 1151
BILE REFLUX 698
BIOCOMPATIBILITY 564, 570
BIODEGRADATION 257
BIOGENIC AMINES 1195
BIOMARKER 1191
BIOMATERIALS 1263
BIOMECHANICS 927
BIO-SEPARATION 619
BIOSTATISTICS 583
BLADDER 150
BLEEDING DUODENAL ULCER 704
BMI 864
BONE SUBSTITUTE 231, 286
BREAST CANCER 140, 540, 858, 941, 1182
BREAST RECONSTRUCTION 453
BRONCHIAL ASTHMA 1034
BRONCHIAL REACTIVITY 180

C

CADAVERINE 502
CALCIFIC AORTIC STENOSIS 964
CALCIUM 13, 899
CARDIOMYOPATHY 391
CARDIOVASCULAR DISEASE 371, 382, 845
CARDIOVASCULAR RISK 64, 680, 1001, 1006
CARIES RISK 241
CAROTENOIDES 264
CAROTID IMNT 397
CATHETER ABLATION 1016
CEFTRIAXONE 1238
CELIAC DISEASE 1093
CEREBRO-SPINAL FLUID 721
CERVICAL CANCER 478, 540, 1216
CERVICAL SPINE 814
CHAMOMILAE EXTRACTS 604
CHAMOMILLAE FLOS 593, 1274
CHEMICAL VARIABILITY 1280
CHEMOKINES 1176
CHLORHEXIDINE 221
CHOLESTEROL LOWERING THERAPY 964
CHROMOSOMAL ANOMALIES 523
CHROMOSOME ALTERATION 1077
CHRON'S DISEASE 97, 610
CHRONIC HEPATITIS505
CHRONIC KIDNEY DISEASE 1070
CIRCUMFERENTIAL STRESS 293
CIRRHOSIS 1056
CLIMACTERIC SYMPTOMS AND HRT 471
CM50 589
COLLAGEN 286
COLORECTAL CANCER 442
COMMUNITY ACQUIRED 402
COMMUNITY-ACQUIRED RESPIRATORY INFECTIONS 410
COMPLEMENT ACTIVATION 279
COMPOSITE BIOMATERIALS 286
COMPRESSION STOCKINGS 795
COMPUTERIZED PROGRAM 558
COMPUTERIZED SPIROMETRY 1293
CONFIDENCE LEVEL 527
CONSERVATIVE ENDODONTICS 227
CONTAMINATED FOODSTUFF 1061
CONTRAST-INDUCED NEPHROPATHY 108
CONTROLLED DRUG RELEASE 164
CONVENTIONAL ECHOCARDIOGRAPHY 391
CORONAL SEALING 227
COSMIC RADIATION 1077
COUNSELING 589
C-REACTIVE PROTEIN 371
CYTOKINES 1176

D

DATABASE DESIGN 1289
DECAYED MISSING FILLED INDEXES 206
DEEP VENOUS THROMBOSIS 68, 795
DEGENERATIVE AORTIC STENOSIS 964
DENTAL ARCHES 625
DENTAL CT 904
DENTAL DECAY 206
DENTOCULT 241
DEPRESSION 386
DESCRIPTIVE STUDY 84, 423
DESMANET PINNING 1155
DIABETES 241, 685
DIABETES MELLITUS 140, 330, 353, 371, 838, 1048, 1200, 1298

DIABETIC NEPHROPATHY 32, 363, 1200
DIAGNODENT 1268
DIAGNOSIS 89, 428, 1099
DIAMIDE 185
DIESEL EXHAUST 180
DIETARY SURVEY 1227
DIGESTIVE FISTULAS 125
DIRECT SEPARATION 619
DISLIPIDEMIES 864
DISTAL RADIUS FRACTURE 1155
DIURETIC ACTIVITY 264
DRG 1231
DRUG DELIVERY 1160
DYSPEPSIA 330
DYSPEPTIC SYNDROME 1048

E

EARLY DIAGNOSIS 984
ECHOCARDIOGRAPHY 692
EDENTATION 1268
EEG 432
E-HEALTH 610, 1289
EJECTION FRACTION 692
ELASTIC PINNING 1155
ELDERLY 211, 762, 849, 885
ELECTRO-ACUPUNCTURE 788
ELECTRO-GASTROGRAPHY 120
EMBOLISATION 145
EMERGENCY MANAGEMENT 1231
ENDOMETRIAL CANCER 132, 809, 540, 1216
ENDOMETRIOSIS 799
ENDOTHELIAL DYSFUNCTION 826, 975
EPIDEMIOLOGICAL ASPECT 1089
EPIDEMIOLOGY 53, 549, 1222
EPILEPSIES 432
EPITHESIS 570
ERYTHROCYTE 185
ERYTHROMYCIN 619
ESSENTIAL ARTERIAL HYPERTENSION 549
ESTROGEN RECEPTOR 996
EUTHANASIA 663
EXPERIMENTAL MENOPAUSE 826
EXTENDED EDENTATION 579

F

FACIAL RECONSTRUCTION 757
FATTY LIVER 345
FEMALE INFERTILITY 1113
FIRST PERMANENT MOLAR 1253
FLAP 453
FLAXSEED 1200
FOOD FREQUENCY QUESTIONNAIRE 1061
FOOD INTAKE 554
FOREARM FRACTURES 154
FROZEN SECTION EXAM 136, 771
FRUIT CONSUMPTION 554
FUNCTIONAL DYSPEPSIA 1040
FUNGI GERMS 593

G

GADOLINIUM 108
GAIT ANALYSIS 1293
GALIUM ALBUM MILL 1280
GALL BLADDER 84, 423
GALL STONES 84, 423, 698
GASTRIC DYSRHYTMIA 120
GASTRIC EMPTYING 1040
GASTRINOMA 482
GASTRITIS 1066
GASTROPARESIS 330
GENETIC FACTORS 1107
GENOTYPING 1205
GLAUCOMA 1120
GOLDEN HOUR 48
GOUT 1001
GRAM NEGATIVE BACILLI 721
GRAPE SEEDS 838
GTPasc ASSAY 915

H

H$_2$R 915
HEALTH SERVICES 1231
HEARING LOSS 814
HEART RHYTHM VARIABILITY 610
HELICOBACTER PYLORI 704, 1048, 1056, 1093
HEM COMPATIBILITY 279
HEMOLYSIS 279
HEMORRHAGIC RISK 145
HEPATIC CANCER 1131
HEPATIC ENCEPHALOPATHY 1056
HEPATITIS 991
HEPATITIS B AND C VIRUS INFECTION 217
HEREDITARY PREDISPOSITION 1182
HIGH BLOOD PRESSURE 386
HIGH LEVEL AIRWAY OBSTRUCTION 1126
HIGH RISK GROUPS 650
HIP JOINT FORCE 1293
HIP PROSTHESIS 1293
HISTAMINE 502, 1195
HISTERO-SALPINGOGRAPHY 803
HISTOLOGY 93, 1258
HISTOPATHOLOGY 136, 540
HODGKIN DISEASE 93
HORMONAL STATUS 32
HOSPITAL MANAGEMENT 1231
HPLC 59, 604, 1195, 1280, 1285
HR HPV 1205
HUMAN MAMMARY ARTERIES 1170
HUMAN TOXOCARIASIS 428, 1099
HYDRO GELS 164
HYDROLYZED COLLAGEN 257
HYDROXYL APATITE 286
HYGROSCOPIC EXPANSION 235
HYPERHOMOCYSTEINEMIA 68
HYPERTENSION 353, 397
HYPERTENSION TREATMENT 23
HYPERURICEMIA 1001

I

IATROGENIC 762
IDEAL TUMORAL MARKER 1191
IDIOPATHIC MENTAL RETARDATION 516
IDIOPATHIC PANCREATITIS 97
IDL 1170
IMAGISTIC EXPLORATION 904
IMMUNOCOMPROMISED PATIENTS 410
IMMUNOHISTOCHEMISTRY 819
IMMUNOMODULATING TREATMENT 1102
IMMUNOPHENOTYPE 1176
IMPAIRED GLUCOSE TOLERANCE 685
INDIVIDUAL VARIABLES 1089
INFECTIVE ENDOCARDITIS 762, 1249
INFERTILITY 799, 803
INFLAMMATORY BOWEL DISEASE 97
INFUSIONS 1274
INSTITUTIONALIZED 211, 849
INSULINOMA 482
INSULIN-RESISTANCE 64
INVERTED PAPILLOMA 150
IRIDOIDS 1280
IRRIGATED CATHETER 1016
ISONIASIDE 1285

K

Ki 67 1034
KIDNEY 466
KLIPPEL-TRENAUNAY SYNDROME 497

L

LAPAROSCOPY 780, 799
LARGE GENE REARRANGEMENTS 1182
LARYNGO-TRACHEAL 1126
LEPTIN 345
LICHEN PLANUS-LIKE ERUPTION 1102
LIFE STYLE 322
LIPOSOME 164
LIQUID MEMBRANE 619
LIVER CIRRHOSIS 59, 1061
LIVER METASTASES 442
LIVER SINUSOID 505
LYMPHOCYTIC GASTRITIS 1093

M

MAGNESIUM 899
MAGNETIC NANO-PARTICLES 279
MALABSORBTION SYNDROME 103
MAPK 13
MARGINAL LEAKAGE 235
MASS TRANSFER 934
MASTECTOMY 453
MAXIMUM BITE FORCE 625
MEAT PRODUCTS 1195
MEDICAL EVACUATION 48
MENTAL RETARDATION 523
METABOLIC ACIDOSIS 733
METABOLIC SYNDROME 371, 1001
MICRO PARTICLES 1160
MICROBIOLOGICAL 593
MINICHOLECYSTECTOMY 1136
MLPA 516, 1182
MOUTH RINSE 221
mTOR 13
MUCILAGE 264
MULTIMODAL TREATMENT 941
MYOCARDIAL INFARCTION 116, 685
MYOMETRIAL INVASION 136

N

NADP OXIDASE 315
NANO-PARTICLES 1160
NANO-HYBRID COMPOSITE 235
NEISSERIA GONORRHOEA 1238
NEPHROTIC SYNDROME 1107
NEURODEGENERATIVE DISEASE 1120
NEUROPROTECTION 1120
NEURORESCUE 1120
NICOTINE 832
NONALCOHOLIC STEATOHEPATITIS 345
NON-INVASIVE METHODS 1268
NON-INVASIVE VENTILATION 42
NON-MELANOMA SKIN CANCER 509
NON-TRAUMATIC 1025
NOSOCOMIALE MENINGITIS 721
NTPROBNP 391
NUTRIENTS 211
NUTRITION 125
NUTRITION QUALITY 849
NUTRITIONAL ANTIOXIDANTS 826
NUTRITIONAL BEHAVIOR 554
NUTRITIONAL HABIT 1227

O

OBESITY 197, 322, 740, 1006
OBESITY COMPLICATIONS 740
OBESITY PARADOX 1006
OCCUPATIONAL HEALTH 869
OCCUPATIONAL MEDICINE PREVENTION 680
OCCUPATIONAL STATUS 79
ONYCOMYCOSIS 1083
OPEN SOURCE SOFTWARE 927, 1289
OPHTHALMIC AFFECTIONS 615
ORAL BACTERIA 1249
ORAL EFFECTS 885
ORAL HEALTH 246
ORAL REHABILITATION 558
ORAL SUPPURATIONS 899
OSSEO INTEGRATION 231
OVALBUMINE 180
OVARIAN CANCER 540, 1216
OVARIAN CARCINOMA 1191
OVERPRESSURE COMPLIANCE 293
OXIDATIVE STRESS 315, 502, 832, 1200
OXIDIZED-LDL 315, 397
OXYGEN TRANSPORTERS 339

P

P_{53} 509
PAIN 246, 788, 1146
PANCREATIC ENDOCRINE TUMORS 482
PANCREATITIS 97
PANORAMIC RADIOGRAPH 250
PARASITOSIS 428, 1099
PARATHYROID ADENOMA 482
PATH PHYSIOLOGY 1107
PATIENT MONITORING 610
PEARSON TEST 864
PEDIATRIC CARDIAC SURGERY 459
PEGYLATED INTERFERON 991
PELLETS 934
PELVIC LYMPHADENECTOMY 809
PELVIC PAIN 799
PENICILLIUM CHRYSOGENUM 934
PER APICAL LESIONS 227
PERIODONTAL DISEASE 904
PERIPHERAL VASCULAR DISEASE 788
PERYMAXILLARY ABSCESS 1249
PHARMACOLOGIC THERAPY 716
PHOTOSENSITIVITY 432
PILOMATRICOMA 819
PIROXICAM 268
POLYCYSTIC KIDNEY DISEASE 13
POLYMERIC BIOMATERIALS 564
POLYMERS 164
POLYPHENOL 604, 838, 1274, 1280
POLYVINYL CHLORIDE 257
POPULATIONAL STUDIES 845
POST-CHOLECYSTECTOMY SYNDROME 698
PRE ANESTHETIC DRUGS 1146
PREGNANCY 497, 795
PREMATURE CARE 1211
PREMATURE LOSS 1253
PREMENSTRUAL DYSPHORIC DISORDER 996
PRETERM NEWBORN 1211
PREVALENCE 79, 549, 1070
PREVENTION 217, 478, 549
PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS 583
PROGNOSIS 402, 941, 1176
PROLIFERATIVE FACTOR 509
PROLONGED FEVER 766
PROSTATE CANCER 173
PROSTHESIS 453
PSORIASIS 751, 1083
PUBERTY 32
PULSE WAVE VELOCITY 667
PY PINNING 1155

Q

QUALITY OF LIFE 745
QUESTIONNAIRE 745

R

RADIOFREQUENCY 1131
RADIOGRAPHS 575
REAL TIME PCR 1205
RED WINE 845
REFERENCE MATERIALS 533
REHABILITATION 79, 716
REINFORCEMENT FIBERS 564
REMOVABLE PROSTHESIS 564, 1263
RENAL FUNCTION 1070
RENIN-ANGIOTENSIN-ALDOSTERONE SYSTEM 23
REPLACEMENT THERAPY 471
RESILIENT ATTACHMENTS 579
RESPIRATORY ACIDOSIS 42

Index cuvinte cheie

RESPIRATORY EPITHELIUM 1034
RESPIRATORY FAILURE 42, 1126
RESPIRATORY MANIFESTATIONS 1099
RESTORATIVE COMPOSITES 892
RHABDOMYOLYSIS 1025
RHEOLOGY 921
RHEUMATOID ARTHRITIS 73, 710
RHEUMATOID FACTOR 73
RHEUMATOLOGY 79, 716
RIBAVIRIN 991
RISK ASSESSMENT 1216
RISK FACTORS 68, 140, 322, 363, 382, 478, 549, 845, 858, 869, 1211, 1222
ROAD INJURIES 466

S

SALIVA 899
SALVIA 221
SAMPLE SIZE 527
SAPONINS 264
SCOPOLAMINE 832
SELF-MEDICATION 589
SENTINELS LYMPH NODE ANALYSIS 771
SEPSIS 410
SEROTONIN 996
SIGNAL PROCESSING 120
SIGNALING PATHWAYS 13
SIMULTANEOUS BILATERAL REGISTRATION 625
SINUS GRAFT 1141
SINUS LIFTING 1141
SOCIAL CASES 1263
SOCIAL GROUP RELATIONS TEENAGERS 197
SOD 1170
SOFT TISSUES 757
SONOGRAPHY HYCOSTY 803
SPASTIC HEMI PARESIS 154
SPECIES ISOFORMS 915
SPECTROPHOTOMETRIC 268, 598
SPONGE KIDNEY 438
SQUAMO-CELLULAR CARCINOMA 509
SQUARAMIDES 915
STAPHYLOCOCCUS AUREUS 192, 410
STATINS 315, 964, 975
STATISTICAL SIGNIFICANCE 527
STATISTICAL VARIABLES CLASSIFICATION 583
STERIGMATOCYSTIN 59
STIRRED BIOREACTOR 934
STRESS BRACKERS 579
SUBANTRAL AUGMENTATION 231
SUBTELOMERIC REARRANGEMENTS 516
SUICIDE 727
SURGICAL REPAIR 459
SURGICAL RESECTION 442
SURGICAL STAGING 809
SURGICAL TREATMENT 1131
SUSCEPTIBILITY 192, 1238
SWEET FOOD 206
SYNCHRONOUS 442
SYSTEMIC MEDICATION 885
SYSTOLIC VOLUME INDEX/PP RATIO 667

T

TEI INDEX 391
TELEMEDICINE 1289
TEMPERATURE 185, 921
TEMPORARY MOLAR 1253
TENOXICAM 598
TETRALOGY OF FALLOT 459
THERAPEUTIC MANAGEMENT 376
THERAPEUTIC PROSPECTS 75
THERMAL CONDUCTIVITY 892
THERMAL STABILITY 921
THIADIAZINES 274
THROMBOPENIA 991
THROMBUS FORMATION 279
TIBOLONE 471
TINCTURES 1274
TINNITUS 814
TNF-ά 345
TOXOCARA 428, 1099
TRACE ELEMENTS 257
TRANSFUSION 339
TRANSURETHRAL INCISION 1151
TRANSVAGINAL ULTRASOUND 132
TRAUMA 570
TRICUSPID VALVE 762
TRIGEMINAL NEURALGIA 246 246
TUBAL PATENCY 803
TUBERCULOSIS 766
TUBULE VACUOLIZATION 108
TWIN STUDIES 1077
TYRAMINE 502, 1195

U

ULCERATIVE COLITIS 438
ULNA 154
ULTRASONOGRAPHY 136
ULTRASOUND EXAMINATION 438
URETERAL PELVIC LITHIASIS 1151
URETEROCELES 1151
URINARY BIOMARKERS 984
URINARY EFFORT INCONTINENCE 159
URINARY TRACT 466
UROTHELIAL TUMORS 150
UTERINE CONGENITAL ANOMALIES 1113

V

VALIDATION 268, 598, 1285
VASCULAR DEMENTIA 53
VASCULAR MALFORMATIONS 145
VEGETABLE INTAKE 1227
VENOUS THROMBOEMBOLISM 497
VERTIGO 814
VIOLA TRICOLOR 264
VIRAL HEPATITIS 745
VIRAL HEPATITIS A 1222
VIRTUAL REALITY SIMULATORS 780
VISUAL EVOKED POTENTIAL 615
VRIES CLINICAL SCORE 523

W

W/O/W DOUBLE EMULSION 921
WERMER SYNDROME 482
WITHDRAWAL SYNDROME 879
WORK-RELATED DISEASES 680

X

X METABOLIC SYNDROME 740
X-LINKED AGAMMAGLOBULINEMIA 103

Z

ZINC 650, 899
1,3 DIMETHYL-XANTHINE 274
^{13}C UREA BREATH TEST 704, 1048
^{13}C-ACID OCTANOIC BREATH TEST 1040
3D ULTRASOUND 1113

INSTRUCŢIUNI PENTRU AUTORI

Revista Medico-Chirurgicală a Societăţii de Medici şi Naturalişti din Iaşi publică articole originale (de cercetare fundamentală şi clinică), articole tip trecere în revistă (review) şi actualităţi (update), articole tip prezentare de caz, note clinice şi experimentale, recenzii, articole tip scrisoare către editor, informări asupra unor reuniuni ştiinţifice etc. în domeniul medicinii şi în domeniile conexe. Nu sunt acceptate materiale publicate sau în curs de publicare în alte reviste, cu excepţia lucrărilor publicate în rezumat.

Pentru **articolele originale** conţinutul trebuie structurat în următoarele secţiuni: INTRODUCERE, MATERIAL ŞI METODĂ, REZULTATE, DISCUŢII, CONCLUZII, MULŢUMIRI, BIBLIOGRAFIE.

Secţiunea Introducere (i) oferă suportul de informaţii care susţine, în baza literaturii de specialitate, subiectul vizat şi (ii) indică scopul pentru care a fost realizată cercetarea, subliniind elementele de noutate prin care se individualizează aceasta.

Secţiunea Material şi metodă include date precise, reproductibile şi verificabile, asupra materialul studiat, elementelor testate şi criteriilor de evaluare.

Secţiunea Rezultate prezintă, concis, datele obţinute (inclusiv sub formă de tabel sau figuri). În raport de scopul urmărit, acolo unde este cazul, rezultatele sunt validate printr-o prelucrare statistică adecvată. Textul acestei secţiuni va fi scris utilizând timpul trecut.

Secţiunea Discuţii urmăreşte interpretarea rezultatelor obţinute în cercetarea realizată, semnificaţia lor ştiinţifică fiind analizată în raport cu lucrările altor autori dedicate aceluiaşi subiect şi raportate în fluxul principal de publicaţii.

Secţiunea Concluzii subliniază aportul adus de cercetare în progresul cunoştinţelor în domeniu.

Secţiunea Mulţumiri include numele unor instituţii, organizaţii sau persoale care au contribuit decisiv în realizarea studiului.

Articole tip **trecere în revistă** (review) şi **actualităţi** (update) asupra unor subiecte de interes sunt în principal solicitate de editori, fiind însă luate în considerare, în sistem de peer-review, şi cele primite de la autori.

Pentru articolele tip **prezentare de caz**, conţinutul trebuie structurat în următoarele secţiuni: INTRODUCERE, PREZENTAŖEA CAZULUI, DISCUŢII.

PREGĂTIREA MANUSCRISULUI

Pregătirea manuscrisului se va face în conformitate cu instrucţiunile publicate în: Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals (1994) *Lancet* 1996; 348; V2; 1-4.

Textul va fi scris cu fonturi Times New Roman 12 pts. Revista foloseşte ortografia cu *â* şi *sunt*. Numerotarea paginilor se face în partea din dreapta jos.

Abrevierile nu trebuie utilizate excesiv şi trebuie explicate la prima apariţie în text.

Materialele nu vor depăşi: articole originale - 6 pagini/2500 cuvinte; articole tip trecere în revistă (review) şi actualităţi (update) - 8 pagini/3500 cuvinte; articole tip prezentare de caz - 4 pagini/1700 cuvinte; note clinice şi experimentale - 3 pagini/1300 cuvinte; recenzii, articole tip scrisoare către editor, informări asupra unor reuniuni ştiinţifice - o pagină/450 cuvinte. Revista îşi rezervă dreptul unor modificări impuse de tehnoredactare şi aranjare în pagină.

Manuscrisele respinse, ca urmare a deficienţelor de conţinut, nu se returnează.

Titlul şi autorii

Titlul trebuie să fie cât mai scurt şi elocvent pentru conţinutul manuscrisului. Titlul se va scrie cu litere de rând. Numele autorilor vor fi scrise cu litere de rând, prenumele precedând numele, pentru autori prescurtat, pentru autoare întreg. Afilierea va cuprinde instituţia (Universitate şi Facultate/Spital) şi compartimentul (Departament/Disciplină/Secţie) pentru fiecare autor. Autorii sunt obligaţi să menţioneze autorul desemnat pentru corespondenţă, cu datele de contact (e-mail şi telefon).

Rezumatul

Rezumatul va conţine:	Recomandări speciale
* Obiectivele clare ale studiului	* Extrageţi elementele principale din fiecare etapă a studiului pentru a fi expuse cât mai concentrat
* Descrierea materialului şi metodelor utilizate (concis şi clar)	În rezumat NU vor fi incluse: * tabele, figuri sau note bibliografice * informaţii care nu sunt prezentate în studiu * mai mult de 200 de cuvinte
* Rezultatele obţinute (cele mai importante, exprimate, dacă este posibil, numeric şi evaluate statistic)	
* Concluziile cele mai importante şi semnificaţia lor ştiinţifică	

Întrucât rezumatele în limba engleză au o circulaţie internaţională, redactarea lor trebuie să fie conform normelor internaţionale. Rezumatul va fi precedat de titlul articolului, tradus în limba engleză, scris cu majuscule, urmat de cuvântul (Abstract), conform următorului model:

NEUROLOGICAL MANIFESTATIONS IN COLAGEN DISEASES (Abstract) : Colagen disease are ... (urmează textul scris în continuare, fără aliniate). La sfârşitul rezumatului în limba engleză se vor menţiona obligatoriu, cu majuscule, cuvintele-cheie (3 până la 5), în conformitate cu INDEX MEDICUS şi MEDLINE.

Subtitlurile din cuprinsul articolului trebuie scrise cu litere capitale.

Figurile şi tabelele trebuie inserate echilibrat în text. Fiecare figură sau tabel trebuie să fie însoţite de titlu şi legendă.

Figurile, numerotate cu cifre arabe, vor avea o lăţime de 6,5 cm (pentru a se încadra pe o coloană) sau de 13,5 cm (pentru a se încadra pe ambele coloane) şi vor fi menţionate în text în paranteză cu caractere drepte (fig. 1). Figurile trebuie să îndeplinească următoarele condiţii :

- fotografii scanate la o rezoluţie de minim 300 dpi şi prelucrate ulterior pe calculator, fişier original (*.TIFF, *.JPG) ;
- imagini (desene, grafice) realizate pe calculator, menţionate în text, fişier original (*.XLS, *.CDR).

Titlul şi legenda figurilor vor fi scrise conform modelului :

Fig. 2. Rezultatele clonării moleculare

Tabelele, numerotate cu cifre *romane*, menţionate în text în paranteze (tab. III), vor fi inserate în text şi vor avea o lăţime de 6,5 cm sau de 13,5 cm, fără să depăşească lăţimea unei pagini. *Titlul* tabelului va fi poziţionat deasupra tabelului conform modelului :

TABELUL III

Date analitice comparative

Bibliografia

Referinţele bibliografice trebuie numerotate cu cifre arabe *în ordinea apariţiei în text* (deci *nu în ordine alfabetică*). Bibliografia va fi plasată la sfârşitul articolului şi va cuprinde numai referinţele citate în text (prin menţionarea în paranteză a numărului referinţei). Abrevierea titlurilor revistelor se va face conform Index Medicus.

Dacă un articol are maximum 6 autori vor fi transcrise toate numele. În cazul în care sunt 7 sau mai mulţi autori, se vor menţiona doar numele primilor 3 autori la care se adaugă abrevierea et al.

Sunt acceptate următoarele forme de scriere a bibliografiei :

Articole din reviste :

Amura SG. Neurotransmitter transportor : recent progress. *Ann Rev Neurosci* 1993 ; 16 : 73-93.

Tonis PJ, von Sandick JW, Nieweg OE et al. The hidden sentinel node in breast cancer. *Eur J Nucl Med* 2002 ; 29 : 305-311.

Cărţi :

Titlul unei cărţi :

Ashcroft FM. *Ion Channels and Disease.* San Diego, London : Academic Press, 2000.

Capitol dintr-o carte :

Pandiom MR, Fischer DA. Immunoradiometric assays. In : Scabes CG editor. *Handbook of Endocrine Research Techniques.* New York, London : Academic Press, 1993, 26-52.

Pentru alte situaţii se va consulta site-ul : *www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html*

TRIMITEREA MANUSCRISULUI

Manuscrisele, în dublu exemplar, tipărite pe foi A4, pe o singură faţă cu lăţimea paginii de 13,5 cm, vor fi depuse la Redacţia Revistei Medico-Chirurgicale sau trimise prin poştă pe adresa Societăţii de Medici şi Naturalişti Iaşi, însoţite de formatul electronic, pe dischetă sau CD-Rom, menţionându-se procesorul de text folosit (de preferinţă Word).

COPYRIGHT

Acceptarea articolului pentru publicare implică asumarea transferului dreptului de proprietate intelectuală al autorilor asupra revistei. Formularul pentru copyright va fi semnat de autorul desemnat pentru corespondenţă.

ÎN ATENŢIA AUTORILOR

Deoarece este necesară contribuţia materială a autorilor la cheltuielile de editare şi tipărire ale Revistei Medico-Chirurgicale, începând cu numărul 1/2008 se impun următoarele condiţii :

1. Membrii cotizanţi ai Societăţii de Medici şi Naturalişti Iaşi pot publica articole fără achitarea unei taxe.
2. Autorii care nu sunt membri cotizanţi ai Societăţii de Medici şi Naturalişti Iaşi vor achita o taxă de 50 RON în contul RO72RNCB0175033604340001, chitanţa fiind prezentată odată cu depunerea articolului.

Universitatea de Medicină şi Farmacie „Gr. T. Popa" Iaşi